63. Jahrgang – Heft 7 – 1. Juli 2019

WEHRMEDIZINISCHE MONATSSCHRIFT

Fachzeitschrift des Sanitätsdienstes der Bundeswehr

Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Wehrmedizin und Wehrpharmazie e.V.

BUNDESWEHR

Wehrmedizinhistorische Publikationen

Neu

Jetzt auch erhältlich über den neuen Buchshop des Beta Verlages

Bestellen Sie hier:

www.wehrmed.de/buch-shop

beta verlag
Beta Verlag und Marketinggesellschaft mbH
Celsiusstraße 43 • 53125 Bonn
Telefon: 0228 91937-10 • Fax: 0228 91937-23
info@beta-publishing.com • www.beta-publishing.com

Editorial

Sehr geehrte Leserin,
sehr geehrter Leser,

der Einsatz chemischer Kampfstoffe sowohl im Rahmen kriegerischer Auseinandersetzungen – wie im Bürgerkrieg in Syrien – als auch bei terroristischen Übergriffen oder Mordanschlägen – wie im Jahre 2018 in Salisbury – ist furchtbare Realität. Vor diesem Hintergrund gewinnen wissenschaftliche Tagungen, wie die im März 2019 in München abgehaltene 17. Medical Chemical Defense Conference (17. MCDC), eine zunehmende Bedeutung. Mit der weltweit bedeutendsten Fachtagung auf diesem Gebiet stellt der Sanitätsdienst der Bundeswehr mit dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie einen wichtigen Pfeiler für die internationale Zusammenarbeit zur Verfügung.

Ich freue mich deshalb darüber, Ihnen mit dieser Ausgabe der „WMM“ die wichtigsten Ergebnisse der 17. MCDC vorstellen zu können. Dabei geben die Kurzfassung der prämierten Poster und eines Vortrags im „Science Salm-Wettbewerb“ der Tagung Beispiele für das hohe fachliche Niveau und die Praxisrelevanz der Forschung auf dem Gebiet des Medizinischen C-Schutzes. Mit der Originalarbeit von GIESCHE et al. zum Einsatz von Nahrungsergänzungsmitteln bei z. B. durch Schwefellost (S-Lost) bedingten Hautschädigungen werden in dieser Ausgabe auch die Forschungsergebnisse eines jungen Nachwuchswissenschaftlers vorgestellt. Über die konkrete Fragestellung zur Wirksamkeit von Nahrungssupplementen ist es ihm im Rahmen dieser Arbeit gelungen, auch ein wirtschaftliches Modell für zukünftige Untersuchungen zu etablieren. Neue Nachweismethoden, wie sie im Beitrag von JOHN et al. in Bezug auf den 2015 erfolgten Einsatz von S-Lost im Nahen Osten aufgezeigt werden, machen es möglich, auch noch lange Zeit nach dem Einsatz von Kampfstoffen diese mit höchster Sicherheit zu identifizieren.

Auch in der Vergangenheit wurde in der WMM über die alle zwei Jahre stattfindende Medical Chemical Defense Conference im Rahmen eines Schwerpunktheftes berichtet. Der Bericht von der 17. MCDC erscheint nun in der ersten Ausgabe der WMM, die im neuen „Corporate Design“ der Bundeswehr gestaltet wurde. Ich freue mich darüber, Ihnen Neues aus meinem Fachgebiet erstmals in diesem neuen und nach meiner Meinung sehr gelungenen Layout vorstellen zu können.

Ich wünsche Ihnen viel Freude beim Lesen dieser Ausgabe, die – über die schon vorgestellten Beiträge hinaus – auch eine Reihe von Informationen aus unserem Sanitätsdienst und für die truppenärztliche Sprechstunde bereithält.

Ihr

Oberstarzt Prof. Dr. Horst Thiermann
Leiter des Instituts für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr, München

Inhaltsverzeichnis

Heft 7/63. Jahrgang – Juli 2019

Editorial

Thiermann H 217

Originalarbeit

Giesche R, Popp T, Schmidt A, Thiermann H, Steinritz D
Einsatz von Nahrungsmitteln und Nahrungssupplementen bei alkylanzien-induzierten Hautschäden
Use of nutrients and supplements for alkylating agent-induced skin damage 218

Medizinischer ABC-Schutz

John H, Koller M, Worek F, Thiermann H, Siegert M
Einsatz des Hautkampfstoffs Schwefellost im Nahen Osten: Neue Methoden zum Beweis der Vergiftung 226

Herbert J
17. Medical Chemical Defense Conference 232

Tsoutsoulopoulois A, Popp T, Siegert M et al.
Evaluation of a novel air-liquid interface exposure system for the aerosolization of the chemical warfare agent sulfur mustard 238

Rothmiller S, Jäer N, Bürkle A et al.
Sulfur mustard exposure results in chronic senescence in mesenchymal stem cells 241

Andrae B, Bauer D, Gaß P et al.
Functionalized Sulfonatocalix[4]arenes as Scavengers for the Detoxification of V-Type Nerve Agents 243

Sichler S
Molecular Matchmaking 245

Truppenärztliche Praxis

Jäger M
„QM“ in der truppenärztlichen Praxis 247

Aus dem Sanitätsdienst 249

Buchvorstellungen 255

Mitteilungen der DGWMP e. V. 256

Titelbild

Prophylaxe und Therapie von Vergiftungen mit chemischen Kampfstoffen sowie Dekontamination Verwundeter sind Aufgaben des Medizinischen ABC-Schutzes. Forschung und Wissenschaft auf der einen und intensives Training des Sanitätspersonals auf der anderen Seite schaffen die Voraussetzungen für eine erfolgreiche Versorgung betroffener Soldatinnen und Soldaten. (Bild: „Verwundetendekontamination“ im Rahmen der ILÜ San 2019; © Bundeswehr/ Patrick Grüterich)

ORIGINALARBEIT

Einsatz von Nahrungsmitteln und Nahrungssupplementen bei alkylanzien-induzierten Hautschäden

Use of nutrients and supplements for alkylating agent-induced skin damage

Robert Giesche*, Tanja Popp*, Annette Schmidt*, Horst Thiermann*, Dirk Steinritz*

Zusammenfassung

Einleitung: Schwefellost (S-Lost) ist eine hochtoxische, alkylierende Verbindung, die erstmals im Ersten Weltkrieg eingesetzt wurde. Nach Kontakt mit S-Lost treten nach einer klinischen Latenzzeit von bis zu 24 Stunden charakteristische Symptome an Haut, Augen, Lunge und inneren Organen auf. Kutane Anzeichen sind Erytheme, Inflammation, Blasenbildung und Ulzerationen der betroffenen Hautareale. Auch Halblost (CEES) und Chlorambucil besitzen eine vergleichbare hautschädigende Wirkung. Bis heute existiert kein Antidot zur Therapie von S-Lost-induzierten Schäden. In dieser Arbeit wurden mögliche protektive Eigenschaften von Nahrungsmitteln und Supplementen auf alkylanzien-induzierte Zellschäden *in vitro* untersucht.
Material/Methoden: Humane Keratinozyten (HaCaT) dienten als Surrogatmodell für die menschliche Haut. Nach einer Vorinkubation der HaCaT mit den zu untersuchenden Testsubstanzen Natrium-Ascorbylphosphat, Bromelain, Ginkgo, Vitamin D_3, α-Linolensäure und Docosahexaensäure für 2 oder 24 Stunden erfolgte eine Exposition mit den Alkylanzien S-Lost, CEES und Chlorambucil.
Ergebnisse: Bei Ginkgo, Vitamin D_3 und Docosahexaensäure konnte eine Erhöhung der Zellviabilität im Vergleich zu einer mit Chlorambucil oder S-Lost-vergifteten, unbehandelten Kontrolle festgestellt werden. Weiterhin wurde der Einfluss der Testsubstanzen auf S-Lost-induzierte Veränderungen in wichtigen zellulären Signalwegen untersucht. Es zeigte sich, dass Ginkgo, Vitamin D_3 und Docosahexaensäure eine anti-apoptotische Wirkung auf S-Lost-exponierte Zellen aufwiesen.
Diskussion und Ausblick: Die Ergebnisse der *in vitro* Versuche zeigten protektive Eigenschaften von Ginkgo und Vitamin D_3 bei S-Lost-induzierten Zellschäden. Diese könnten potenziell auch *in vivo* vorhanden sein, was Chancen auf die Entwicklung nebenwirkungsarmer Protektiva eröffnet. Mit der, im Rahmen dieser Arbeit etablierten, Screening-Methode kann zukünftig eine effektive Untersuchung, der möglichen protektiven Wirkung von Nahrungsmitteln und Supplementen auf eine Alkylanzien-induzierte Zelltoxizität, erfolgen.
Schlüsselworte: S-Lost, Alkylanzien, Apoptose, Ginkgo, Vitamin D_3

Summary

Introduction: The chemical warfare agent sulfur mustard (SM) is a highly toxic alkylating agent, which was first used in World War I. After exposure, symptoms related to skin, eye and lung damage develop after a characteristic symptom-free period of several hours. Erythema, inflammation, blistering and ulceration are observed in the affected skin areas. The same effect can be observed for other alkylating compounds like the nitrogen mustard chlorambucil and the monofunctional SM analogue CEES. Currently, there is no antidote available.
In this study, potentially protective effects of nutrients and supplements on alkylating agent-induced cytotoxicity was investigated *in vitro*.

Material/Methods: Human keratinocytes (HaCaT), a surrogate model for human skin, were pretreated 2 or 24 hours with the substances of interest: sodium ascorbic phosphate, bromelain, ginkgo, cholecalciferol (vitamin D_3), α-linolenic acid und docosahexaenoic acid. Afterwards, cells were exposed to the different alkylating agents.

Results: Ginkgo extract, vitamin D_3 and docosahexaenoic acid treatment increased cell viability compared to chlorambucil- or SM-exposed sham-treated controls. To elucidate the molecular toxicology of alkylating agents in more detail, various cellular signaling pathways were investigated. Ginkgo, vitamin D_3 and docosahexaenoic acid exhibited antiapoptotic effects on exposed cells.

Discusssion and perspective: Our results revealed that these substances may have a benefit in SM-induced cell damage. This may also hold true *in vivo*, thus paving the road for the development of protective drugs with few side effects. The screening-method, which has been established within this study, will allow effective testing of nutrients and supplements regarding their protective effects on alkalyting agents induced cytotoxicity.

Keywords: Sulfur mustard, alkylating agent, apoptosis, ginkgo, vitamin D_3

*Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr, München

Einleitung

Die Gefahr eines Einsatzes von S-Lost, vor allem durch terroristische Organisationen im Rahmen asymmetrischer Bedrohungsszenarien, hat signifikant zugenommen. Dies wird durch die forensisch nachgewiesene Verwendung von S-Lost 2013 in Syrien und 2015 im Irak unterstrichen [18, 20]. Derzeit steht bei einer Exposition mit dem Hautkampfstoff oder mit ähnlich wirkenden alkylierenden Substanzen keine spezifische Behandlung zur Verfügung. Es fehlt ein wirksames Antidot. Adjuvantiv einsetzbare Substanzen sind bisher ebenfalls nicht verfügbar.

Klinik und Folgen der Lostvergiftung

Der erste Kontakt mit dem Kampfstoff verläuft klinisch inapparent [26]. Erst nach einer Latenzzeit von mehreren Stunden sind Anzeichen einer Exposition mit S-Lost zu erkennen. Dabei sind die am stärksten betroffenen Organe das Auge, die Haut und der Respirationstrakt [3]. Typische kutane Anzeichen sind Erytheme, Inflammation, Blasenbildung und Ulzerationen der betroffenen Hautareale [3]. Pigmentierungsstörungen (sowohl Hyper- als auch Hypopigmentierung) treten ebenfalls regelmäßig auf. Eine Langzeithospitalisierung betroffener Patientinnen und Patienten über Wochen und Monate aufgrund der Hautschäden ist oftmals erforderlich. Eine S-Lost-Exposition kann zu verschiedenen Langzeitfolgen führen. Selbst 15 bis 20 Jahre nach einer einmaligen Exposition kann eine Erblindung (sog. „Mustard Gas Keratopathy“) auftreten [4]. Nach inhalativer Aufnahme kann sich als Sonderform einer chronisch obstruktiven pulmonalen Erkrankung die sogenannte „Mustard Lung“ ausbilden [3]. S-Lost besitzt zudem eine kanzerogene Wirkung. So wurde ein erhöhtes Risiko für Lungenkrebs bei Fabrikarbeitern festgestellt, welche über einen längeren Zeitraum subakut toxischen Dosen von S-Lost ausgesetzt waren [3, 21].

Molekulare Toxikologie von S-Lost

Die molekulare Toxikologie von S-Lost ist komplex. Der Kampfstoff ist eine hochreaktive chemische Verbindung, die im menschlichen Körper eine Vielzahl von Reaktionen eingehen kann. Nach der Bildung eines heterocyclischen Sulfoniumions reagiert es mit Kohlenhydraten, Proteinen, Phospholipiden sowie Nukleinsäuren [4, 14]. Bedingt durch die zwei Chlorethylketten handelt es sich um ein bifunktionales Molekül. Entstehende Quervernetzungen erhöhen die schädigende Wirkung.

Die Alkylierung der DNS ist u. a. ein Auslöser von Apoptose und Nekrose sowie des Zellzyklusarrests einer exponierten Zelle [13]. Zusätzlich kommt es zur Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und somit zu oxidativem Stress. Zudem wird ein Anstieg der intrazellulären Calcium-Konzentration sowie eine Entzündungsreaktion induziert. Letztere ist durch einen Anstieg von pro-inflammatorischen Interleukinen (z. B. IL-1α, -1ß, -6, -8), Leukotrien B4 und Tumornekrosefaktor α (TNFα) gekennzeichnet [22].

Nahrungsmittel und Supplemente als Protektoren?

Für eine Reihe von Nahrungsmitteln und Supplementen wurden ROS-protektive und anti-inflammatorische Eigenschaften beschrieben. Es sollte deshalb in dieser Arbeit untersucht werden, ob diese *in vitro* die zytotoxische Wirkung von S-Lost reduzieren können. Dabei wurden die zu untersuchenden Zellen mit den Nahrungsmitteln oder Supplementen vorbehandelt und anschließend mit S-Lost exponiert. Die zu untersuchenden Substanzen wurden anhand ihrer ROS-protektiven Effekte oder antientzündlichen Wirkung identifiziert. Folgende Stoffe wurden für die Studie ausgewählt:

- Natrium-Ascorbylphosphat (NAP), ein phosphatiertes Derivat des Vitamin C, wurde auf Grund seines in der Literatur beschriebenen antioxidativen Effektes gewählt. Vitamin C und seine Derivate reagieren unter Bildung von Dehydroascorbinsäure direkt mit freiem ROS und fungieren somit als ROS-Scavenger [9]. Die phosphatierte Form des Vitamins zeigt, beispielsweise als Magnesium-Ascorbylphosphat, deutlich protektive Effekte vor UV-Strahlung in Keratinozyten *in vitro* [12, 17].
- Bei Bromelain handelt es sich um Cystein-Proteasen, Peroxidasen und Phosphatasen der Pflanzenfamilie der *Bromeliaceae* [27, 1]. Die Enzyme sind in der Lage, zellschädliche freie Radikale und insbesondere ROS zu reduzieren [27]. Zusätzlich wird eine anti-inflammatorische Wirkung von Bromelain beschrieben [2].
- Ein Ginkgo-Extrakt (im Folgenden Ginkgo) wurde als weitere Substanz getestet, da für alle Inhaltsstoffe des Extrakts, bis auf Ginkgolsäure, antioxidative und anti-inflammatorische Wirkungen beschrieben werden [25].
- Vitamin D_3 wird eine anti-inflammatorische Wirkung zugeschrieben, da es den intrazellulären Vitamin-D-Rezeptor (VDR) bindet, in den Zellkern translociert und dort die Genexpression beeinflusst. So wird unter anderem die Bildung der Cyclooxigenase-2 gesenkt, was eine Entzündungsreaktion reduzieren kann [15].
- Als letzte Substanzen wurden die zwei essentiellen Omega-3-Fettsäuren α-Linolensäure (ALA) und Docosahexaensäure (DHA) verwendet, da sie oxidativen Stress reduzieren können [10]. Zusätzlich konnte für ALA ein positiver Effekt auf die Proliferationsrate von Stammzellen beschrieben werden [24]. DHA zeigte in einer klinischen Studie anti-inflammatorische Effekte [7]. Es wurde vermutet, dass die beschriebenen Wirkungen den S-Lost-Pathomechanismus positiv beeinflussen und somit Zellschäden reduzieren könnten.

Studienziel

Ziel der Arbeit war die Untersuchung möglicher protektiver Effekte der beschriebenen Nahrungsmittel und Supplemente auf S-Lost-induzierte Zellschäden. Dabei standen die S-Lost-induzierte ROS-Erhöhung sowie die entstehende Entzündungsreaktion im Vordergrund. Zusätzlich wurde die Apoptose als Endpunkt beider Pathomechanismen durch entsprechende Proteinanalytik untersucht. Um die möglichen protektiven Effekte zu bewerten und zu beschreiben, wurden die Untersuchungen um zwei weitere Alkylanzien (das monofunktionelle S-Lost Analogon Halblost (CEES) und das Stickstofflost-zytostatikum Chlorambucil) ergänzt.
Aufgrund des Fehlens eines geeigneten Antidots gegen S-Lost oder andere Alkylanzien wäre eine Reduktion der Hautschäden oder anderer klinischer Parameter durch den Einsatz von Nahrungsmitteln oder Supplementen von erheblichem Nutzen. Sie könnten, einen klinischen Benefit vorausgesetzt, im Sinne einer gut verträglichen Präventivmaßnahme prophylaktisch supplementiert werden. Zwar war es von Anfang an wenig wahrscheinlich, dass die untersuchten Substanzen schon bestehende Therapieoptionen ersetzen können; sie könnten jedoch therapieunterstützend wirken und die Hospitalisierung oder Behandlungsdauer der betroffenen Patientinnen und Patienten möglicherweise verkürzen. Darüber hinaus könnten die Substanzen einen protektiven Einfluss auf noch nicht geschädigte Zellen haben, um so eine Ausbreitung der S-Lost-Wirkung im Gewebe zu verringern. Im Vordergrund der Untersuchungen stand die Identifizierung möglicher S-Lost protektiver Substanzen, welche das Potenzial besitzen, als sinnvolles Adjuvans zu bestehenden Therapien verwendet werden zu können.

Material und Methoden

Für die Etablierung eines adäquaten Modellsystems diente eine humane Keratinozytenzelllinie (HaCaT). Diese wurde unter Standardbedingungen bei 37 °C und 5 % CO_2 in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) mit 5 %igem fetalem Kälberserum (FKS) kultiviert. Ernte und erneute Aussaat der Zellen erfolgten alle 3 bis 4 Tage.
Zu Beginn der Arbeit wurde die Zellzahl für das gewählte Testsystem optimiert. Anschließend konnte mit dem Testsystem die Verträglichkeit (Toxizitätsbestimmungen, Ermittlung der LC_{50}) der zu untersuchenden Nahrungsmittel, Supplemente und Alkylanzien bestimmt werden. Die Ermittlung des Endpunkts der Zellzahloptimierung sowie die Verträglichkeitsuntersuchungen erfolgten über die Messung der Zellviabilität mittels eines modifizierten Tetrazoliumtests (XTT-Assay; Cell Proliferation Kit II XTT von Roche® Apllied Life Science). Die Grundlage eines Tetrazoliumtests basiert auf der enzymatischen Reduktion eines Tetrazols in ein Formazan, welches anschließend photometrisch bestimmt werden kann. Dieses setzt einen funktionellen mitochondrialen Metabolismus der Zellen voraus. Die Zellviabilität ist ein Surrogatmarker für die Vitalität einer Zelle und beschreibt den Anteil von lebensfähigen Zellen innerhalb einer Population. Dabei wird das Tetrazol von zelleigenen Enzymen reduziert und der entstandene Komplex photometrisch gemessen. Je mehr Zellen lebensfähig sind, desto höher ist die gemessene Absorption.
Zur Bestimmung der Zytotoxizität der Alkylanzien wurden Dosis-Wirkungs-Kurven erstellt. Dazu wurden unter Standardbedingungen kultivierte (siehe oben) HaCaTs mit absteigenden Konzentrationen der zu untersuchenden Gifte für 24 h inkubiert. Anschließend wurde ein XTT-Assay durchgeführt, um die Zellviabilität der inkubierten HaCaTs zu bestimmen. Anhand der somit erhaltenen Dosis-Wirkungs-Kurven konnte die LC_{50}-Konzentration für S-Lost (25,3 µM), CEES (4090 µM) und Chlorambucil (786,8 µM) ermittelt werden. Die LC_{50}-Konzentrationen waren der Ausgangspunkt für die Festlegung der im Testsystem verwendeten Alkylanzien-Dosis. Basierend auf den Ergebnissen wurden drei Alkylanzien-Konzentrationen ausgewählt. Dabei waren die sinnvoll gerundeten LC_{50}-Konzentrationen bei CEES (4000 µM) und Chlorambucil (800 µM) die höchste verwendete Dosis dieser Alkylanzien. Zusätzlich wurden die LC_{25}- und LC_{10}-Konzentrationen untersucht (Chlorambucil 675 und 725 µM; CEES 2800 und 3300 µM), um mögliche Effekte bei niedrigeren Expositionsdosen ermitteln zu können. Bei S-Lost wurde die Entscheidung zu einer anderen Einteilung getroffen, da in den weiterführenden Versuchen bei den initial eingesetzten Konzentrationen nur geringe Effekte im Vergleich zur Kontrolle festgestellt werden konnten. Es war daher nötig, die Konzentration – von der LC_{50}-Konzentration ausgehend – zu verdoppeln. Für die weiteren Versuche wurden somit Konzentrationen von 25, 50 und 100 µM S-Lost verwendet.
Zusätzlich wurde die Verträglichkeit (Toxizität) der eingesetzten Nahrungsmittel und Supplemente getestet. Aus Dosis-Wirkungs-Kurven wurden über die jeweiligen LC_{50}-Werte die Konzentrationen ermittelt, welche keinen schädlichen Einfluss auf die verwendeten HaCaT aufwiesen.

Als höchste jeweils nichttoxische Konzentration ergaben sich folgende Konzentrationen für
- NAP 10 mM,
- Vitamin D_3 20 µm,
- ALA und DHA jeweils 50 µM,
- Bromelain[1] 15 µg/ml und für
- Ginkgo[1] 600 µg/ml.

Das weitere Vorgehen zur Ermittlung des Einflusses von Nahrungsmitteln und Supplementen bei alkylanzien-induzierten Hautschäden wird in Abbildung 1 dargestellt.

[1] Bromelain und Ginkgo sind Stoffgemische; somit kann keine molare Konzentration angegeben werden.

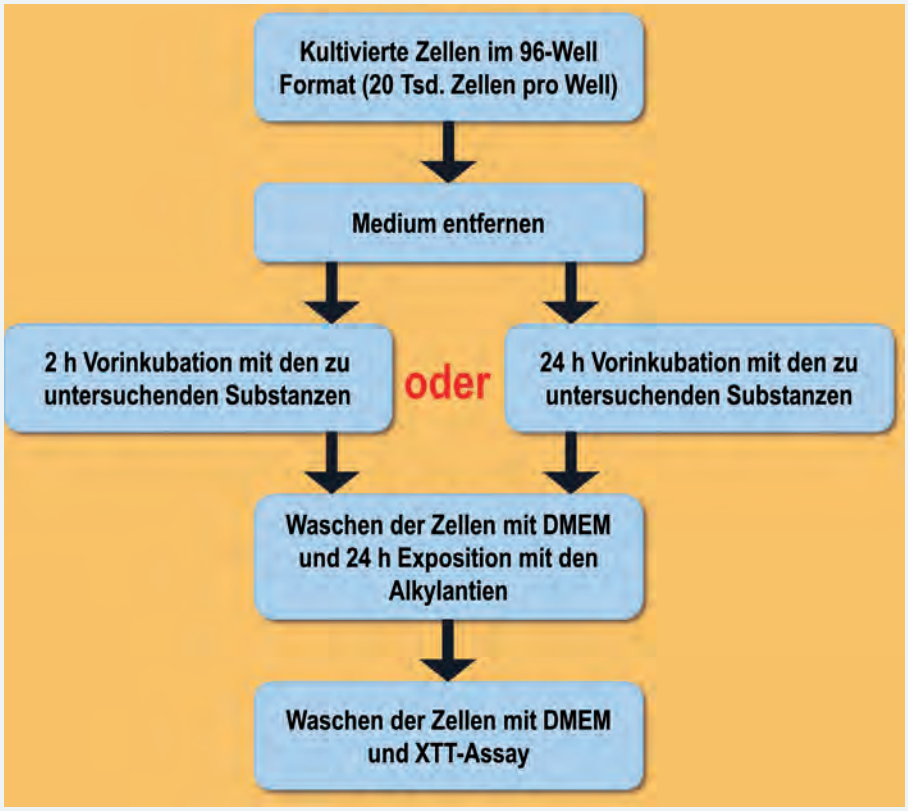


Abb. 1: Schematische Darstellung des Testsystems

Um mögliche akute protektive Effekte von Effekten mit zeitlicher Latenz differenzieren zu können, wurden zwei unterschiedliche Vorinkubationszeiten gewählt. Bei einer zweistündigen Vorinkubation hatten die Testsubstanzen einen generell geringen Einfluss auf Stoffwechselvorgänge wie zum Beispiel die Bioproteinsynthese, aber ein hohes antioxidatives Potenzial, da sie von der Zelle noch nicht vollständig metabolisiert wurden. Bei einer 24-stündigen Vorinkubation haben die Testsubstanzen keine antioxidative Kapazität mehr, hatten aber durch ihre Metaboliten einen erwartet höheren Einfluss auf Stoffwechselvorgänge wie zum Beispiel die Bioproteinsynthese. Für jedes Nahrungsmittel bzw. Supplement wurden jeweils in verschiedenen Versuchen die Wirkungen nach einer 2 h und 24 h Vorinkubation überprüft.

Zur Überprüfung der in der Literatur [9, 27, 25, 10] beschriebenen antioxidativen Kapazitäten der Testsubstanzen, diente ein *in vitro* Testsystem (CAA-Assay; OxiSelect™ Cellular Antioxidant Assay Kit von Cell Biolabs). Dabei handelt es sich um ein biologisches Testsystem, bei dem vitale Zellen (HaCaTs) unter physiologischen Reaktionsbedingungen verwendet werden. Der Vorteil dieser Herangehensweise gegenüber chemischen Tests ist, dass biologische Parameter, wie z. B. die Aufnahme der Substanzen durch eine Zellmembran und der zelluläre Metabolismus, berücksichtigt werden.

S-Lost induziert Apoptose und beeinflusst andere Stoffwechselkaskaden [13]. Um diese teilweise unbekannten Mechanismen genauer zu untersuchen, wurden Proteine verschiedenster Stoffwechselvorgänge oder Signalkaskaden qualitativ bestimmt. Dazu wurden immunologische Screening-Tests (PathScan-Array; PathScan® Stress and Apoptosis Signaling Antibody Array Kit und PathScan® Intracellular Signaling Array Kit von Cell Signaling) durchgeführt. Bei diesen Sandwich-Immunoassay befindet sich ein primärer Antikörper auf einer Nitrocellulose-Membran. Die Zielproteine binden diesen und werden anschließend von einem sekundären Antikörper erfasst. In einem weiteren Reaktionsschritt wird dieser mit einem Fluoreszenzmarker versetzt, welcher photometrisch detektiert werden kann. Der Einfluss der drei Supplemente (Ginkgo, DHA und Vitamin D_3), welche einen nachweislichen Einfluss auf die S-Lost-, CEES- und Chlorambucil-induzierte Zellschäden hatten, wurde untersucht.

Ergebnisse

Verträglichkeitsuntersuchungen

Zunächst werden die Ergebnisse der Verträglichkeitsuntersuchungen in Bezug auf die Toxizität der eingesetzten Testsubstanzen und Alkylanzien dargestellt. Die dabei ermittelten LC_{50}-Konzentrationen sind in Tabelle 1 abgebildet. Die „eingesetzte Konzentration“ entspricht einer Konzentration, bei der keine Einschränkungen der Zellviabilität zu beobachten war.

Tab. 1: LC_{50}-Konzentrationen der Testsubstanzen und Alkylanzien

Substanz	LC_{50}-Konzentration	Eingesetzte Konzentrationen
NAP	21,9 mM	10 mM
Bromelain	76,3 µg/ml	15 µg/ml
Ginkgo	1 107 µg/ml	600 µg/ml
Vitamin D_3	58,7 µM	20 µM
ALA	117,3 µM	50 µM
DHA	96,4 µM	50 µM

Einfluss auf die Zellviabilität

Der Einfluss der Nahrungsmittel und Supplemente auf Alkylanzien-induzierte Hautschäden wurde durch den in Abbildung 1 dargestellten Versuchsaufbau untersucht. Die Ergebnisse der Testsubstanzen, welche einen signifikanten Einfluss auf die Zellviabilität besitzen, sind in Abbildung 2 dargestellt.

Bei einer 2-stündigen Vorinkubation der Zellen mit Ginkgo und DHA mit anschließender Exposition gegenüber 50 µM und 200 µM S-Lost waren, im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrolle, signifikante Verbesserungen der Zellviabilität zu beobachten (Abbildung 2A). Vitamin D_3, Ginkgo und DHA zeigten nach einer 24-stündigen Vorinkubation und anschließender 24-stündiger Exposition gegenüber Chlorambucil eine signifikante Zellviabilitätssteigerung (Abbildung 2B). Auf die Zytotoxizität des S-Lost Analogons CEES hatte keine der untersuchten Substanzen eine positive Wirkung (Daten nicht dargestellt).

Antioxidative Kapazität der Testsubstanzen

Zusätzlich wurde die oxidative Kapazität der Testsubstanzen untersucht. Dabei sollten etwaige antioxidative Eigenschaften der Nahrungsmittel und Supplemente identifiziert werden. Wie in Abbildung 3 erkennbar, zeigte nur NAP eine Senkung der normalisierten relativen Fluoreszenz (RFU). Das bedeutet, dass einzig NAP ein antioxidatives Potenzial besitzt. Entgegen der allgemeinen Darstellung in der Literatur [25, 10] zeigten Ginkgo, ALA und DHA sogar eine Steigerung der Bildung freier Radikale, welche einen möglichen Zellschaden verursachen könnten. Dieser Effekt ist mit einer Erhöhung der normalisierten RFU gekennzeichnet (siehe Abbildung 3).

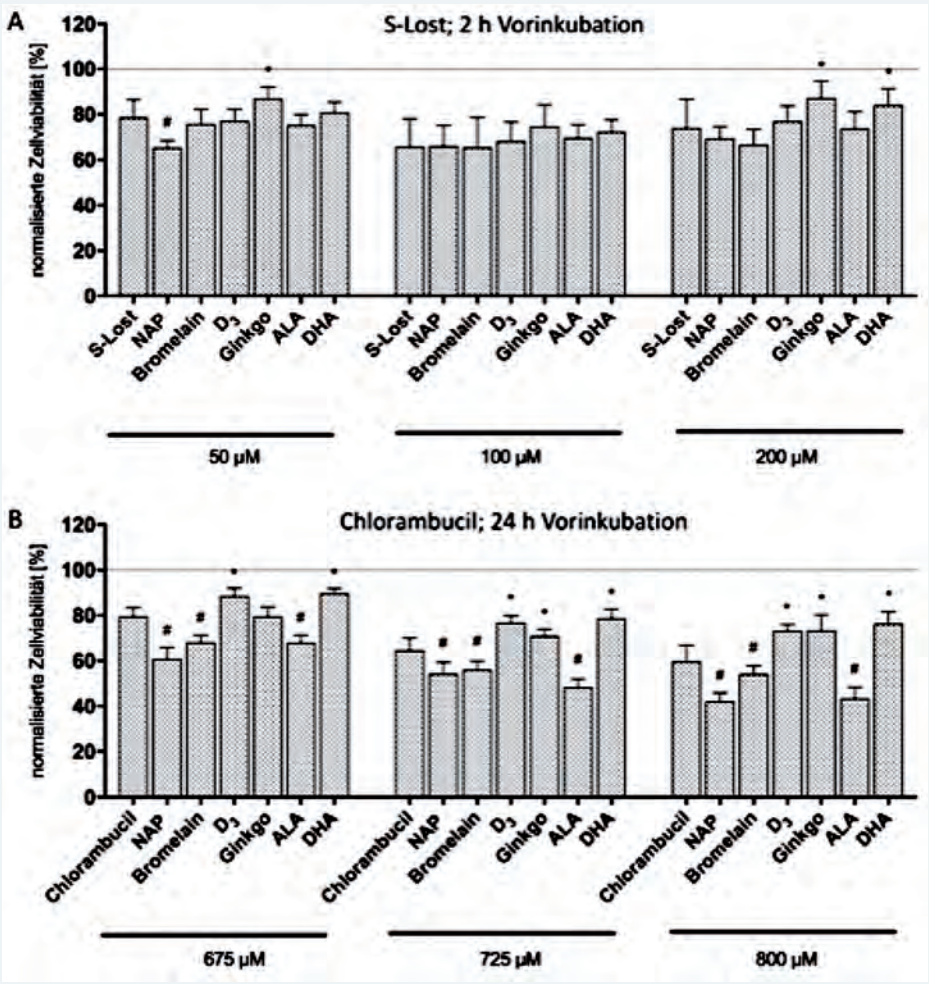


Abb. 2: A und B: Grafische Darstellung der Zellviabilität nach einer Vorinkubation mit den Testsubstanzen und anschließender Alkylanzien-Exposition; Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (n=8); # signifikante ($p \leq 0{,}01$) Senkung der Zellviabilität, bezogen auf die unbehandelte Alkylanzien-Kontrolle; * signifikante ($p \leq 0{,}01$) Erhöhung der Zellviabilität im Vergleich zur unbehandelten Alkylanzien-Kontrolle; normalisierte Zellviabilität von 100 % entspricht einer unbehandelten und nicht vergifteten Kontrolle.

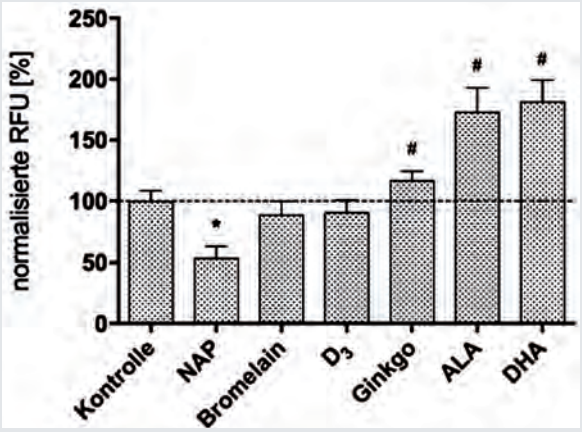


Abb. 3: 2-stündige Vorinkubation mit den Testsubstanzen und anschließende Exposition mit einem freien Radikalbildner (2,2´-Azo-bis(2-amidinopropan) dihydrochlorid (AAPH)); Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (n=6); * signifikante ($p \leq 0{,}01$) Senkung der normalisierten RFU, bezogen auf eine unbehandelte Quercetin-Kontrolle; # signifikante ($p \leq 0{,}01$) Erhöhung der normalisierten RFU, bezogen auf eine unbehandelte Quercetin-Kontrolle; normalisierte RFU von 100 % entspricht einer unbehandelten Quercetin-Kontrolle.

Apoptose und intrazelluläre Signalkaskaden

Zur Untersuchung des Einflusses der Testsubstanzen auf alkylanzien-induzierte Veränderungen in den wichtigsten zellulären Signalwegen wurden spezifische Proteine der Apoptose und intrazellulären Signalkaskaden untersucht. Dabei wurden HaCaT mit Vitamin D_3, Ginkgo und DHA über 24 Stunden und anschließend gegenüber den drei Alkylanzien exponiert. Vier signifikante Ergebnisse werden in Abbildung 4 dargestellt. Exemplarisch wird in Abbildung 4A die Fluoreszenzaufnahme eines Proteinarrays dargestellt. Hier lassen sich die Effekte der Testsubstanzen und Alkylanzien ablesen.

Die untersuchten Proteine im Signalweg der Apoptose können in verschiedene Gruppen untergliedert werden: Zum einen sind die MAP-Kinasen zu nennen, zu welchen Erk1/2, SAPK/JNK und p38 gehören [8, 23]. Diese werden u. a. durch extrazelluläre Signale sowie von zellulärem Stress aktiviert [16]. Die zweite Gruppe bilden die Checkpoint-Kinasen Chk1 und Chk2. Sie werden aktiviert, wenn bei der Zellteilung DNS-Schäden auftreten [28]. S-Lost hat eine nachgewiesene DNS-alkylierende und somit schädigende Wirkung und induziert zudem oxidativen Stress [14, 13]. Es wird daher eine Beeinflussung dieser zwei Signalwege erwartet. MAP-Kinasen und die Checkpoint-Kinasen können zudem das Tumorsupressorgen p53 aktivieren, welches maßgeblich am programmierten Zelltod (Apoptose) beteiligt ist [11]. In dem durch p53 ausgelösten Signalweg werden Caspase-3 und -7 aktiviert, wodurch der Prozess der Apoptose induziert wird [6]. Aus den beschriebenen Signalwegen wurden einzelne aktivierte Proteine identifiziert (p38, Chk1 und p53), welche in Abbildung 4B-4D dargestellt sind. Es zeigt sich, dass die eingesetzten Testsubstanzen (Ginkgo, Vitamin D_3 und DHA) die durch alkylanzien-induzierte Proteinaktivierung reduzieren können.

Zusätzlich wurden Proteine weiterer zellulärer Signalwege betrachtet. Die Spaltung der Poly-(ADP-Ribose)-Polymerase (PARP) durch die Caspase-3 ist ein etablierter Apoptosemarker. Erwartungsgemäß führt S-Lost zu einer Induktion der Apoptose, was auch in unseren Versuchen, durch eine PAPR-Spaltung nach S-Lost Exposition, gezeigt werden konnte (Abbildung 4E). Die PARP ist einerseits ein wichtiger Bestandteil bei DNS-Reparaturvorgängen, kann aber auch bei überschießender Aktivierung zu einem Verbrauch von Energie- und Redox-Äquivalenten führen und damit einen durch DNS-Schäden verursachten Zellschaden verstärken. [19]

Diskussion und Ausblick

Bewertung der Ergebnisse

Die durchgeführte Arbeit zeigt, dass ein möglicher protektiver Einfluss auf alkylanzien-induzierte Hautschäden durch die untersuchten Nahrungsmittel und Supplemente angenommen werden kann. NAP, Bromelain, Vitamin D_3, Ginkgo, ALA und DHA besitzen nach einer CEES-Exposition keinen Einfluss auf die Zellviabilität. Auch NAP, Bromelain und ALA führen bei einer S-Lost- oder Chlorambucil-induzierten Zellviabilitätssenkung zu keiner positiven Wirkung. Ginkgo und DHA lassen nach einer 2-stündigen S-Lost-Exposition einen leicht protektiven Effekt erkennen. Auch Vitamin D_3 erzielte nach einer 24-stündigen Vorinkubation und anschließender Vergiftung mit Chlorambucil eine zellviabilitätssteigernde Wirkung. NAP ist die einzige Testsubstanz, welche einen signifikanten antioxidativen Effekt aufweist. Die in der Literatur [25] beschriebene ROS-protektive Wirkung von Ginkgo konnte in der durchgeführten Bestimmung der oxidativen Kapazität (CAA-Assay) nicht reproduziert werden. Daher müssen andere zelluläre Mechanismen, die über eine reine ROS-protektive Wirkung hinausgehen, in Betracht gezogen werden. Denkbar wären direkte Interaktionen zwischen den Alkylanzien und den Testsubstanzen im Sinne einer chemischen Inaktivierung sowie eine Beeinflussung von Zellsignalkaskaden. Die nachgewiesene Wirkung auf die Zellviabilität durch Ginkgo, Vitamin D_3 und DHA wurden mittels einer Proteinanalytik weiter untersucht. Dabei bestätigte sich abermals die fehlende ROS-protektive Eigenschaft von Ginkgo, da keine Reduktion der SAPK/JNK-Aktivität nachgewiesen wurde, welche generell mit einer antioxidativen Wirkung einhergeht [16]. Ginkgo senkte die alkylanzien-induzierte Aktivierung der Proteine Erk1/2 und p38. Derselbe Effekt konnte auch für DHA und Vitamin D_3 nachgewiesen werden. Die Untersuchung der Checkpoint-Kinasen 1 und 2 zeigte, dass vor allem Ginkgo einen Schutz vor einer DNS-Alkylierung aufwies (Chk 1), jedoch keine Doppelstrangbrüche reduzierte. Zudem be-

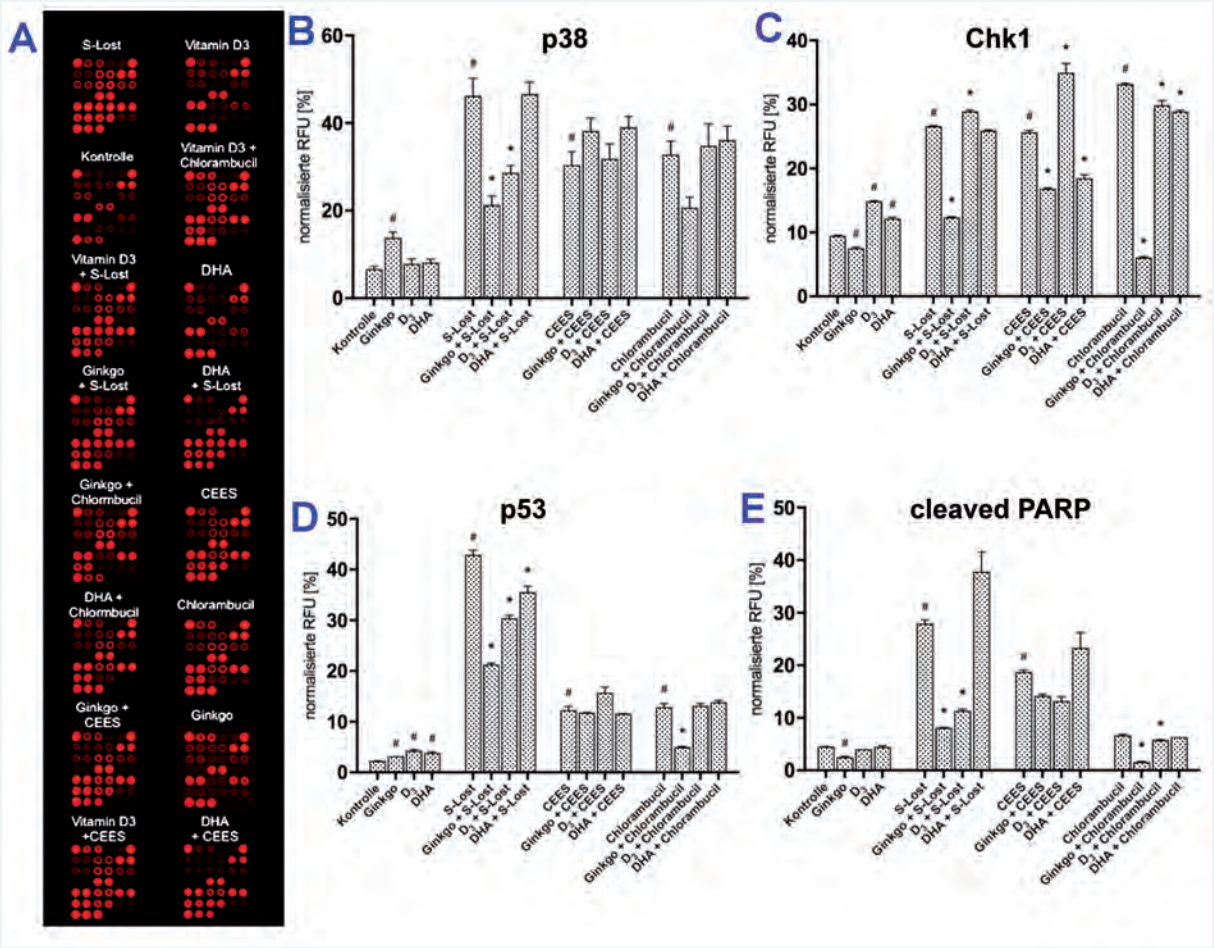


Abb. 4: Grafische Darstellung der PathScan-Daten. **A)** Exemplarische Darstellung eines Proteinarrays; **B)** Protein p38 mit Phosphorylierung am Threonin 180 und Tyrosin 182; **C)** Chk1 mit Phosphorylierung am Serin 345; **D)** Protein p53 mit Phosphorylierung am Serin 15; **E)** PARP mit einer Abspaltung an der Asparaginsäure 214 durch Caspase-3 Aktivierung; **B-E)** Fehlerbalken entsprechen dem Standardfehler (n=2); # signifikanter Unterschied ($p \leq 0{,}01$) zur unbehandelten und nicht vergifteten Kontrolle; * signifikanter Unterschied ($p \leq 0{,}01$) zum in der jeweiligen Gruppe verwendeten Alkylanz.

stätigte sich die alkylanzien-induzierte Aktivierung des programmierten Zelltods. HaCaT Zellen, die als ein etabliertes Testsystem zur Untersuchung der molekularen Toxikologie anzusehen sind, besitzen ein dysfunktionelles p53 System. Die Ergebnisse bedürfen einer Validierung in primären Keratinozyten, die ein nicht eingeschränktes p53 System besitzen. Ginkgo, Vitamin D_3 und DHA besitzen eine signifikante Reduktion der Apoptose. Bei der Untersuchung der Poly-(ADP-Ribose)-Polymerase wurde eine signifikante Reduktion der durch S-Lost induzierten PARP-Deaktivierung durch Ginkgo und Vitamin D_3 festgestellt. Ein möglicher protektiver Effekt auf die durch S-Lost hervorgerufene Blasenbildung sollte mit diesen Substanzen weitergehend untersucht werden.

Ausblick

Die Ergebnisse der Arbeit zeigen, dass eine Supplementierung mit Ginkgo und Vitamin-D_3 eine positive Wirkung haben könnte, was in weiteren Studien verifiziert werden sollte. So könnten zusätzliche Versuche mit komplexeren *in vitro* Modellen und *in vivo* Versuchen realisiert werden. Ein etabliertes Cokulturmodell mit HaCaT und THP-1 Zellen als Surrogat für die immunologische Hautkomponente ist für ein weiteres Vorgehen denkbar [5]. Zudem sollte in weiteren Versuchen die Bioverfügbarkeit der Substanzen und die somit resultierende Konzentration im menschlichen Körper, sowie die Metabolisierung der Substanzen berücksichtigt werden. Die Untersuchung und Identifikation weiterer zellulärer Mechanismen, welche die Ursachen der beschriebenen protektiven Wirkung erklären, ist bereits Gegenstand aktueller Arbeiten. Im Rahmen dieser Arbeit konnte eine Screening-Methode zur Identifizierung von protektiven Stoffen gegenüber Alkylanzien erfolgreich etabliert werden. Die Untersuchungen von weiteren Nahrungsmitteln, Supplementen oder anderen potenziell protektiven Stoffen ist somit zukünftig stark vereinfacht. Dies ermöglicht eine schnelle und effiziente Durchführung von weiteren *in vitro* Studien.

Kernaussagen

- **Die Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine sowie die Aktivierung von Erk1/2 und p38 Signalkaskaden nach durch Alkylanzien induzierten Zellschäden wird durch Ginkgo, DHA und Vitamin D3 reduziert.**
- **Ginkgo, D3 und DHA zeigten eine signifikante Reduktion der Apoptose.**
- **Für die Untersuchung der Wirkung von Nahrungsmitteln und Supplementen auf durch Alkylanzien induzierte Zellschäden konnte eine effektive Screening-Methode etabliert werden.**

Literatur

1. Aktories K, Forth W, Allgaier C: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Für Studenten der Medizin, Veterinärmedizin, Pharmazie, Chemie und Biologie sowie für Ärzte, Tierärzte und Apotheker; mit 305 Tabellen. München: Elsevier, Urban & Fischer 2010.
2. Amini A, Masoumi-Moghaddam S, Ehteda A, Morris DL: Bromelain and N-acetylcysteine inhibLiteratuit proliferation and survival of gastrointestinal cancer cells in vitro: Significance of combination therapy. J Exp Clin Cancer Res. 2014; 33: 92.
3. Balali-Mood M, Abdollahi M: Basic and clinical toxicology of mustard compounds. Springer International Publishing 2015; 135-272.
4. Balali-Mood M, Hefazi M: The pharmacology, toxicology and medical treatment of sulphur mustard poisoning. Fundam Clin Pharmacol. 2005; 19(3): 297-315.
5. Balszuweit F, Menacher G, Bloemeke B, et al.: Development of a co-culture of keratinocytes and immune cells for in vitro investigation of cutaneous sulfur mustard toxicity. Chem Biol Interact. 2014; 223: 117-124.
6. Ben Messaoud N, Yue J, Valent D, Katzarova I, Lopez JM: Osmostress-induced apoptosis in Xenopus oocytes: Role of stress protein kinases, calpains and Smac/DIABLO. PLoS One. 2015; 10(4): e0124482.
7. Bernabe-Garcia M, Lopez-Alarcon M, Villegas-Silva R, et al.: Beneficial Effects of Enteral Docosahexaenoic Acid on the Markers of Inflammation and Clinical Outcomes of Neonates Undergoing Cardiovascular Surgery: An Intervention Study. Ann Nutr Metab. 2016; 69(1): 15-23.
8. Cook SJ, Stuart K, Gilley R, Sale MJ: Control of cell death and mitochondrial fission by ERK1/2 MAP Kinase signalling. FEBS J 2017; 284(24): 4177-4195.
9. Covarrubias-Pinto A, Acuna AI, Beltran FA, Torres-Diaz L, Castro MA: Old Things New View: Ascorbic Acid Protects the Brain in Neurodegenerative Disorders. Int J Mol Sci. 2015; 16(12): 28194-28217.
10. Galan-Arriero I, Serrano-Munoz D, Gomez-Soriano J, et al.: The role of Omega-3 and Omega-9 fatty acids for the treatment of neuropathic pain after neurotrauma. Biochim Biophys Acta Biomembr. 2017; 1859(9 Pt B): 1629-1635.
11. Hampp S, Kiessling T, Buechle K, et al.: DNA damage tolerance pathway involving DNA polymerase and the tumor suppressor p53 regulates DNA replication fork progression. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016; 113(30): E4311-E4319.
12. Hwang TL, Tsai CJ, Chen JL, et al.: Magnesium ascorbyl phosphate and coenzyme Q10 protect keratinocytes against UVA irradiation by suppressing glutathione depletion. Mol Med Rep. 2012; 6(2): 375-378.
13. Kehe K, Balszuweit F, Steinritz D, Thiermann H: Molecular toxicology of sulfur mustard- induced cutaneous inflammation and blistering. Toxicology 2009; 263(1): 12-19.
14. Kehe K, Szinicz L: Medical aspects of sulphur mustard poisoning. Toxicology 2005; 214(3): 198-209.
15. Krishnan AV, Feldman D: Molecular pathways mediating the anti-inflammatory effects of calcitriol: Implications for prostate cancer chemoprevention and treatment. Endocr Relat Cancer. 2010; 17(1): R19-R38. Liu Y, Zhang X, Wang J, Yang J, Tan WF: JNK is required for maintaining the tumor- initiating cell-like properties of acquired chemoresistant human cancer cells. Acta Pharmacol Sin. 2015; 36(9): 1099-1106.
16. Morisaki K, Ozaki S: Synthesis of novel vitamin C phosphodiesters: Stability and antioxidant activity. Carbohydr Res. 1996; 286: 123-138.
17. Organisation für das Verbot chemischer Waffen OPCW: Pressemitteilung vom 26.02.2014. <https://www.opcw.org/news/article/consignment-of-sulfur-mustard-delivered-to-latakia-and-removed-from-syria> (last accessed on 01 February 2018).
18. Papirmeister B, Gross CL, Meier HL, Petrali JP, Johnson JB: Molecular basis for mustard-induced vesication. Fundam Appl Toxicol. 1985; 5(6 Pt 2): 134-149.
19. Reuters Exclusive: Samples confirm Islamic State used mustard gas in Iraq-diplomat. <http://reut.rs/2eqDFHD> (last accessed on 25 May 2017).
20. Rowell M, Kehe K, Balszuweit F, Thiermann H: The chronic effects of sulfur mustard exposure. Toxicology 2009; 263 (1): 9-11.
21. Sabourin CLK, Danne MM, Buxton KL, Casillas RP, Schlager JJ: Cytokine, chemokine, and matrix metalloproteinase response after sulfur mustard injury to weanling pig skin. J Biochem Mol Toxicol. 2002; 16 (6): 263-272.
22. Shah SA, Ishinaga H, Takeuchi K: Clarithromycin inhibits TNF-α-induced MUC5AC mucin gene expression via the MKP-1-p38MAPK-dependent pathway. Int Immunopharmacol. 2017; 49: 60-66.
23. Steinritz D, Bölck B, Schwarz J, et al.: Effect of N-acetyl cysteine and alpha-linolenic acid on sulfur mustard caused impairment of in vitro endothelial tube formation. Toxicol Sci. 2010; 118 (2): 521-529.
24. Wang C, Wang B: Ginkgo Biloba Extract Attenuates Oxidative Stress and Apoptosis in Mouse Cochlear Neural Stem Cells. Phytother Res. 2016; 30 (5): 774-780.
25. Worek F, Thiermann H, Jenner J: Chemical warfare toxicology. Volume 2: Management of poisoning Includes bibliographical references and index. Cambridge (UK): Royal Society Of Chemistry 2016; 120-156.
26. Zavadova E, Desser L, Mohr T: Stimulation of reactive oxygen species production and cytotoxicity in human neutrophils in vitro and after oral administration of a polyenzyme preparation. Cancer Biother. 1995; 10 (2): 147-152.
27. Zhang Y, Hunter T: Roles of Chk1 in cell biology and cancer therapy. Int J Cancer. 2014; 134 (5): 1013-1023.

Manuskriptdaten

Eingereicht: 1. August 2018
Nach Überarbeitung angenommen: 12. Februar 2019

Zitierweise
Giesche R, Popp T, Schmidt A, Thiermann H, Steinritz D: Einsatz von Nahrungsmitteln und Nahrungssupplementen bei alkylanzien-induzierten Hautschäden. WMM 2019; 63(7): 218-225.

Citation
Giesche R, Popp T, Schmidt A, Thiermann H, Steinritz D: Use of nutrients and supplements for alkylating agent-induced skin damage. WMM 2019; 63(7): 218-225.

Für die Verfasser
Stabsapotheker Robert Giesche
Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr Kiel
Kopperpahler Allee 120; 24119 Kronshagen
E-Mail: robert-giesche@gmx.de

MEDIZINISCHER ABC-SCHUTZ

Einsatz des Hautkampfstoffs Schwefellost im Nahen Osten: Neue Methoden zum Beweis der Vergiftung

Harald John*, Marianne Koller*, Franz Worek*, Horst Thiermann*, Markus Siegert*

Zusammenfassung

In einem Krisengebiet im Nahen Osten ereignete sich während kriegerischer Auseinandersetzungen 2015 ein Mörserangriff, bei dem die Freisetzung des Hautkampfstoffes Schwefellost (HD) vermutet wurde. In der Nähe des Aufschlagortes der Granate befanden sich 7 Personen, von denen einige unmittelbar mit Übelkeit und Erbrechen, Durchfall, Irritationen an Haut und Augen sowie Schmerzen im oberen Respirationstrakt reagierten. Vier der Personen entwickelten verzögert Hautrötungen, Blasen und schlecht heilende Hautwunden. Im Rahmen einer ärztlichen Untersuchung wurde 15 Tage nach vermuteter Exposition den betroffenen Personen Blut abgenommen, um mittels langlebiger Protein-Addukt Biomarker den Verdacht auf Vergiftung zu klären. Solche Addukte entstehen im Körper durch chemische Reaktion von HD beispielsweise mit dem humanen Serumalbumin.

Zu diesem Zweck gelangte ein neues, eigens am Institut für Pharmakologie und Toxikologie (InstPharmToxBw) der Bundeswehr entwickeltes Methodenspektrum zum Einsatz. Durch separate Proteolyse der Patientenplasmen mit drei verschiedenen Enzymen (Pronase, Proteinase K, Pepsin) wurden 4 Peptid-Addukte produziert, die sich selektiv und sensitiv mittels einer Kopplung von Flüssigchromatografie zur Trennung und hochauflösender Tandem-Massenspektrometrie zur Detektion (µLC-MS/HRMS) nachweisen ließen. Die verschiedenen Methoden lieferten zur klinischen Symptomatik kongruente Resultate und belegten, dass 4 der 7 Personen durch HD vergiftet worden waren.

Dies ist das erste Mal, dass reale HD-Vergiftungen in diesem Umfang durch Protein-Addukte bewiesen wurden.

Schlüsselwörter: Biomarker, Hydroxyethylthioethyl-Gruppe, LC-ESI MS/HR MS, Protein-Addukte, Hautkampfstoff

Keywords: biomarker, hydroxyethylthioethyl-moiety, LC-ESI MS/HRMS, protein-adducts, vesicant

* Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr, München

Einleitung

Trotz des Verbotes chemischer Waffen durch das Chemiewaffenübereinkommen vom 13. Januar 1993 haben viele Ereignisse innerhalb der letzten 6 Jahre gezeigt, dass weltweit eine reale Bedrohung für Militär und Zivilbevölkerung durch chemische Kampfstoffe besteht. Wie die Organisation für das Verbot Chemischer Waffen (OVCW) bestätigte, kam es im Nahen Osten im Zuge des kriegerischen Syrien-Konfliktes wiederholt zum Einsatz des Nervenkampfstoffes Sarin, des Lungenkampfstoffes Chlor und des Hautkampfstoffes Schwefellost [5, 8-10]. Darüber hinaus wurden mit Substanzen, die zur Klasse der phosphororganischen Nervenkampfstoffe gehören, Mordanschläge 2017 in Malaysia und 2018 im englischen Salisbury verübt [11-12]. Diese Ereignisse verdeutlichen die Notwendigkeit moderner, sensitiver und selektiver bioanalytischer Verfahren zur Detektion von Biomarkern, die den Beweis einer Vergiftung erlauben und somit der Strafverfolgung dienen.

Eine wichtige Klasse der Biomarker sind Reaktionsprodukte von Kampfstoffen mit körpereigenen Proteinen (Protein-Addukte). Diese zeichnen sich durch recht lange Halbwertzeiten im lebenden Organismus aus und ermöglichen somit auch noch Wochen bis Monate nach Vergiftung eine positive Postexpositionsanalytik [2]. Im Falle von Schwefellost (HD) werden Proteine typischerweise durch Anbindung mindestens einer Hydroxyethylthioethyl (HETE) Einheit chemisch modifiziert (Abbildung 1).

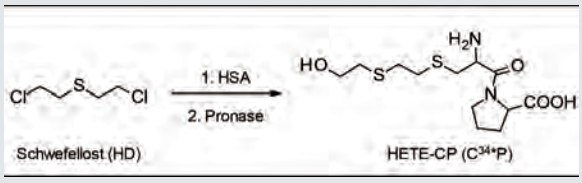


Abb. 1: Chemische Struktur von Schwefellost und des Peptid-Biomarkers C^{34}*P aus humanem Serumalbumin (HSA) nach enzymatischer Spaltung durch Pronase

Addukte mit humanem Serumalbumin (HSA), welches das höchst abundante Protein im Plasma ist, haben sich als valide Biomarker einer HD-Exposition erwiesen [2]. Im HSA reagiert die Aminosäure Cystein an Position 34 (Cys34) mit HD und wird somit durch den HETE-Rest

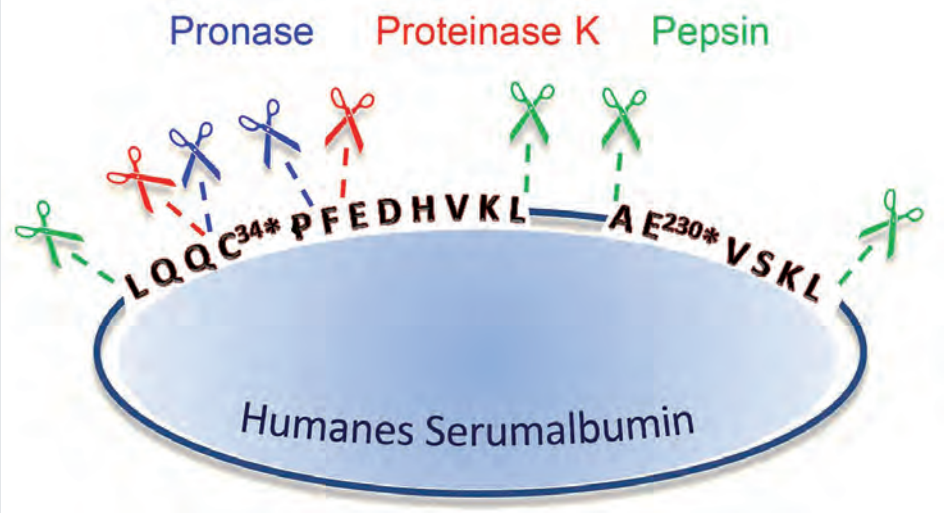


Abb. 2: Peptid-Biomarker aus humanem Serumalbumin: Humanes Serumalbumin liegt nach Exposition mit Schwefellost alkyliert (*) vor, wobei der Cystein-Rest (C^{34}*) und der Glutaminsäure-Rest (E^{230}*) jeweils eine Hydroxyethylthioethyl-Einheit (HETE) tragen können. Die separate enzymatische Spaltung an den aufgezeigten Stellen mittels Pronase, Proteinase K oder Pepsin generiert unterschiedliche Peptid-Biomarker, die sich bioanalytisch zum Beweis einer HD-Vergiftung detektieren lassen.

alkyliert. Ein solches HETE-Addukt wird im Folgenden durch einen Stern an der modifizierten Aminosäure gekennzeichnet (Cys^{34}*).
Wird diesem HSA-Addukt nun im Zuge der Probenaufarbeitung im Labor das Enzymgemisch Pronase zugesetzt, resultiert das Zerschneiden des alkylierten Proteins in kleine Spaltprodukte (Peptide). Dadurch wird das alkylierte Dipeptid, welches aus den Aminosäuren Cystein-Prolin besteht (Cys^{34}*Pro, C^{34}*P), gebildet (Abbildung 1, 2). Es trägt weiterhin den HETE-Rest und fungiert demnach als eindeutiger Biomarker einer HD-Inkorporation [1, 4, 6, 13].

Wird das HSA-Addukt statt mit Pronase mit Proteinase K enzymatisch gespalten, entsteht das Tripeptid Cys^{34}*ProPhe (C^{34}*PF), welches ebenfalls ein bereits international akzeptierter Biomarker der HD-Vergiftung ist (Abbildung 2) [3-7].

Für einen validen Expositionsnachweis nach den Regeln der OVCW sind jedoch immer mindestens zwei verschiedene analytische Methoden für ein und denselben Biomarker oder aber mindestens zwei verschiedene Biomarker mit wenigstens einer Methode nachzuweisen. Daher besteht ein Forschungsinteresse in der Erweiterung des bioanalytischen Methodenspektrums.
Wir stellen hiermit zwei zusätzliche mittels Pepsin neu generierte Expositionsmarker vor (AE^{230}*VSKL und $LQQC^{34}$*PFEDHVKL), die erfolgreich in Plasmaproben von Vergifteten aus einer Krisenregion im Nahen Osten erstmalig nachgewiesen werden konnten [3].

Material und Methoden

Chemikalien

Humanes EDTA-Plasma (Blank Plasma) wurde von Dunn Labortechnik (Asbach, D) bezogen. Pronase (von Streptomyces griseus) und Pepsin (aus Magenschleimhaut des Schweins) stammte von Roche (Mannheim, D) und Proteinase K von Merck (Darmstadt, D). Deuteriertes Atropin (d3-Atr) wurde von CDN Isotopes (Pointe-Claire, Quebec, Canada) beschafft. Schwefellost (HD) wurde durch das Bundesministerium der Verteidigung bereitgestellt. Weitere Chemikalien wurden von gängigen Anbietern bezogen.

Herstellung von Protein-Addukt-Referenzen

Blank Plasma wurde mit 10 µM HD für 2 h bei 37°C und anschließend über Nacht im Kühlschrank inkubiert. Die Proteolyse zur Generierung der verschiedenen Peptid-Biomarker erfolgte wie untenstehend beschrieben.
HD ist ein giftiger Hautkampfstoff, der geschütztes Arbeiten unter dem Abzug erfordert. Laborverbrauchsmaterial muss vor der Entsorgung in basischer NaOCl-Lösung dekontaminiert werden.

Plasmaprobenvorbereitung zur Produktion von C^{34}*P und C^{34}*PF

In einem Gefäß zur Ultrafiltration (UF, 0,5 mL Amicon Ultrafiltration Unit, molecular weight cut-off 10 kDa, Merck-Millipore, Darmstadt, D) wurden 100 µL Blank Plasma, Referenz oder Probe mit 300 µL 50 mM NH_4HCO_3 (pH 8.0) und entweder 100 µL Pronase-Lösung (60 mg/mL in 50 mM NH_4HCO_3) oder 100 µL Proteinase K-Lösung (20 mg/mL in 50 mM NH_4HCO_3) zur Proteolyse (2 h, 37°C) gemischt. Anschließend erfolgte UF (10 min bei 10.270 x g, 15°C) und die Filtrate wurden 1:3 mit d3-Atr-Lösung (3 ng/mL in 0,5 vol% Ameisensäure) verdünnt, um sie mittels micro Flüssigchromatografie-Elektrospray Ionisation hoch-auflösender Tandem-Massenspektrometrie (µLC-ESI MS/HR MS) zu analysieren.

Plasmaprobenvorbereitung zur Produktion von AE^{230}*VSKL und $LQQC^{34}$*PFEDHVKL

In einem UF-Gefäß (siehe oben) wurden 100 µL Blank Plasma, Referenz oder Probe mit 50 µL 10 vol% Amei-

sensäure und 100 µL Pepsin-Lösung (2 mg/mL in 10 vol% Ameisensäure) zur Proteolyse (1 h, 37°C) gemischt. Nach UF (10 min bei 10.270 x g, 15°C) wurden die Retentate zwei Mal mit 100 µL 5 vol% Ameisensäure gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden 1:3 mit d3-Atr-Lösung (3 ng/mL in 0.5 vol% Ameisensäure) verdünnt und über µLC-ESI MS/HR MS analysiert.

Plasmaprobenvorbereitung zur Produktion von derivatisierten Thiodiglykol

Plasma (1 mL) wurde mit 75 µl 1 M Perchlorsäure zur Proteinfällung und dann mit 15 µl 1 M Kaliumacetat-Lösung vermischt und zentrifugiert (10 min, 25.000 x g). Das Proteinpellet wurde getrocknet, mit 1 mL 1 M NaOH (2 h bei 75°C) zur Ablösung des Thiodiglykols (TDG) versetzt und anschließend mit 75 µL HCl (37 % w/v) vermischt. Thiodipropanol (TDP) wurde als interner Standard (10 µL, 1 µg/mL in Acetonitril zugegeben. Nach Festphasen-Extraktion (EASY Chromabond cartridge, 1 mL, 30 mg, Macherey & Nagel, Düren, D) wurden dem Eluat (500 µL Acetonitril) 50 µL Heptafluorbuttersäureanhydrid (HFBA) zugegeben, um bei 50°C für 30 min reagieren zu lassen. Danach erfolgte der Zusatz von 1,4 mL phosphat-gepufferter Kochsalzlösung (0,025 M Na_3PO_4, 0,125 M NaCl, pH 7.4). Zur flüssig-flüssig Extraktion des derivatisierten TDG und TDP wurden 3 mL Chloroform hinzugegeben. Die organische Phase wurde auf 500 µL konzentriert und mittels Gaschromatografie-Massenspektrometrie (GC-MS) analysiert.

µLC-ESI MS/HR MS Analysen

Zum Peptid-Addukt Nachweis wurde ein µLC System (microLC 200, Eksigent Technologies, Dublin, CA, USA) mit einem hoch-auflösenden Massenspektrometer (TT5600+, ABSciex, Darmstadt, D) eingesetzt. Die Trennung der Proteolysegemische wurde über eine Atlantis T3 C18 Säule (50 x 1 mm I.D., 3 µm, 100 A, Waters, Eschborn, D) bei 60°C mit einem Fluss von 30 µL/min und Acetonitrilgradienten vorgenommen.

Die Detektion erfolgte unter optimierten Bedingungen im Tandem-MS Modus, um charakteristische Produktionen der vier Peptid-Addukte C^{34}*P, C^{34}*PF, AE^{230}*VSKL und LQQC^{34}*PFEDHVKL aufzuzeichnen. Nähere technische Details sind der Arbeit von JOHN et al. zu entnehmen [3].

GC-EI MS Analysen

Das durch HFBA derivatisierte TDG und TDP wurde mit einen Gaschromatographen (HP 7890, Agilent Technologies, Waldbronn, D) über eine Optima 5-MS Accent Säule (30 m x 0,25 mm I.D., 0,5 µm Filmdicke, Macherey & Nagel) mit Helium als Trägergas und anschließender Elektronenionisation (70 eV) und Massenspektrometrie (HP 5975 MSD, Agilent Technologies) selektiv detektiert [3].

Plasmaproben von potenziellen HD-Vergiftungsopfern

Nach einem Mörserangriff im Sommer 2015 in einem Krisengebiet des Nahen Osten wurde die Freisetzung

Abb. 3: Erytheme und Pigmentierungsveränderungen bei HD-Vergiftungsopfern (A) Bauch und Hüfte, (B) Ausschnitt und Vergrößerung von A, (C) rechter Oberschenkel, (D) Skrotum; die Fotos wurden 15 Tage nach Exposition aufgenommen.

von HD vermutet. Sieben Personen, die sich nahe der Einschlagstelle aufhielten, waren potenziell exponiert. Unmittelbar nach dem Einschlag klagten einige Personen über Übelkeit und Erbrechen, Irritationen an Haut und Augen, bekamen Durchfall und spürten Schmerzen im oberen Respirationstrakt. Später entwickelten sich Hautrötungen und Blasen auf der Haut. Nach 15 Tagen wurden im Zuge der ärztlichen Behandlung Blutproben genommen. Zu diesem Zeitpunkt litten noch immer vier Personen unter Hautläsionen, Pigmentierungsveränderungen, schmerzenden Wunden, Atemproblemen und Tränenfluss. Die drei anderen Personen zeigten weder unmittelbar nach dem Angriff noch zu späterer Zeit irgendwelche Vergiftungssymptome. Die Blutproben und Fotos wurden mit Zustimmung der Personen zur weiteren Analyse genommen und ins InstPharmToxBw gebracht.

Ergebnisse und Diskussion

Klinische Symptomatik der HD-Vergiftung

Auch 15 Tage nach Exposition zeigten 4 der 7 Personen starke Hautläsionen. Exemplarisch sind diese in Abbildung 3 gezeigt. Auffällig sind die weißen Areale (Abbildung 3A und B), auf denen zuvor Blasen gewesen waren. Starke Erytheme fanden sich bei den illustrierten Personen beispielsweise am Skrotum (Abbildung 3D), dem Oberschenkel (Abbildung 3C) und der Hüfte (Abbildung 3A, B). Diese Symptome sind typisch für die perkutane Vergiftung mit HD. Daher wurden Blutproben genommen und zur biomedizinischen Aufklärung analysiert.

Biomedizinische Verifikation der HD-Vergiftung

Zur Verifikation einer HD-Vergiftung müssen HD-spezifische Biomarker in biologischen Matrizes wie Blut, Plasma, Urin oder Gewebe nachgewiesen werden. Bei diesen Markern kann es sich um das Gift selbst, sein Hydrolyseprodukt TDG und seine enzymatischen Biotransformationsprodukte 1,1′-Sulfonylbis-[2-(methylsulfinyl) ethan] (SBMSE) und 1-Methylsulfinyl-2-[2-(methylthio) ethylsulfonyl] ethan (MSMTESE) handeln [2]. Letztere sind im Urin zugänglich. Der wesentliche Nachteil dieser Marker jedoch besteht in ihrer kurzen Verweilzeit von nur wenigen Tagen im lebenden Organismus. Die vorliegenden Proben wurden jedoch erst 15 Tage nach potenzieller Exposition genommen. Somit musste nach Biomarkern gesucht werden, die eine deutlich längere Halbwertzeit besitzen.

Die HD-HSA-Addukte sind nachgewiesenermaßen für mehr als 3 Wochen stabil [11]. Daher wurden die Proben zuerst auf die Präsenz des aus HSA gebildeten alkylierten Dipeptides (C^{34}*P) [8-11] sowie des Tripeptides (C^{34}*PF) [3-7] untersucht (Abbildung 2). Bei allen Patienten, die zum Blutentnahmezeitpunkt noch erkennbare Hautläsionen zeigten, verlief dieser selektive und sensitive Nachweis mittels µLC-ESI MS/HR MS für beide Peptide positiv. Exemplarisch zeigt Abbildung 4A das eindeutige Auftreten der Peaks für C^{34}*P (Retentionszeit, tR, 6,2 min) und C^{34}*PF (tR 11,1 min). Unbelastete Plasmaproben (Blank Plasma), die nicht mit HD in Kontakt gekommen waren, zeigten erwartungsgemäß keine Interferenzen (Abbildung 4A). Allein der Nachweis dieser

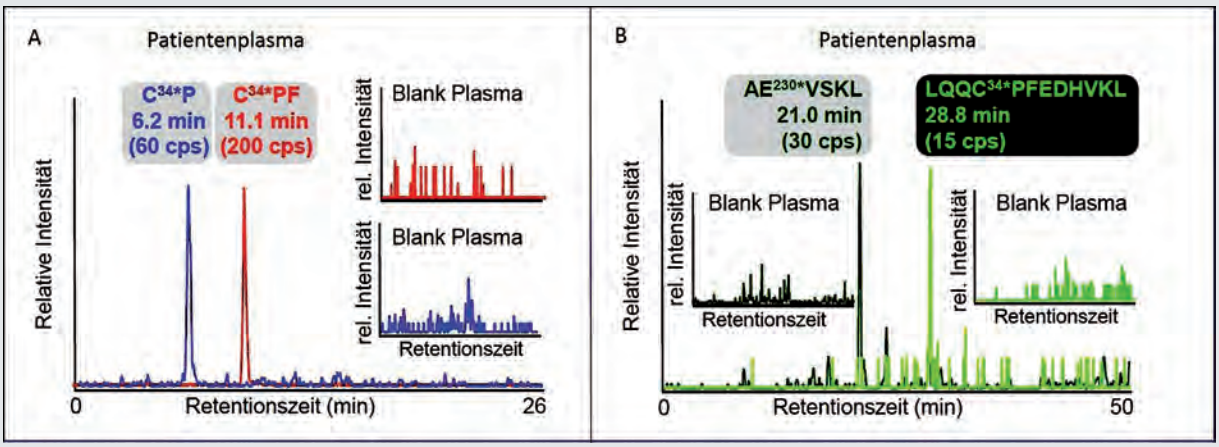


Abb. 4: Chromatogramme einer µLC-ESI MS/HR MS Analyse von Patientenplasma:
(A) Die Peaks des alkylierten Dipeptides C^{34}*P (blau) und des alkylierten Tripeptides C^{34}*PF (rot) beweisen die Vergiftung durch HD.
(B) Die Peaks des alkylierten Hexapeptides AE^{230}*VSKL (dunkelgrün) und des alkylierten Dodecapeptides LQQC^{34}*PFEDHVKL (hellgrün) bestätigen als neue Biomarker die Vergiftung durch HD.
Nicht-exponiertes Plasma (Blank Plasma) zeigte die jeweiligen Signale nicht. Die angegebenen maximalen Intensitäten der Peaks verdeutlichen, dass C^{34}*PF mit höchster (200 cps) und LQQC^{34}*PFEDHVKL mit schwächster Intensität (15 cps) detektierbar waren (cps: counts per second). Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur die Massenspuren der intensivsten Produktionen der jeweiligen Biomarker dargestellt.

beiden etablierten Biomarker galt nach den Kriterien der OVCW schon als eindeutiger Beleg für die HD-Vergiftung.

Zur steten Erweiterung des Methodenspektrums wurde aber zudem in den Realproben nach neuen Biomarkern gesucht, die sich durch die Protease Pepsin aus alkyliertem HSA generieren lassen (Abbildung 2). In Übereinstimmung mit in vitro Proben, bei denen nur Plasma mit HD versetzt worden war, ließen sich die beiden alkylierten Peptide AE^{230}*VSKL (tR 21,0 min, Abbildung 4B) und LQQC^{34}*PFEDHVKL (tR 28,8 min, Abbildung 4B) detektieren (Abbildung 2). Im Gegensatz zu den bisherigen etablierten Markern, die alle einen alkylierten Cys^{34}*-Rest tragen, beinhaltet das Hexapeptid AE^{230}*VSKL einen alkylierten Glutaminsäure-Rest. Wenngleich eine solche Veresterung von sauren Aminosäureseitenketten prinzipiell schon bekannt war, gab es bislang noch keinen Biomarker, der diese chemische Modifikation nutzte. Durch massenspektrometrische Analyse mit modernem hoch-auflösendem Flugzeit-Massenanalysator konnte die Identität beider Substanzen zweifelsfrei belegt und berichtet werden [3]. Diese beiden Biomarker wurden noch nie zuvor zum Beleg einer HD-Vergiftung genutzt. Sie konnten aber eindeutig und ohne Interferenzen in den Plasmaproben all der Patienten gefunden werden, die Hautläsionen zeigten (Abb. 4B). Somit waren die Resultate der Analysen kongruent für die beiden etablierten Biomarker (C^{34}*P und C^{34}*PF) wie auch für die beiden neuen Marker (AE^{230}*VSKL und LQQC^{34}*PFEDHVKL). Alle erforderlichen Qualitätskriterien, die von der OVCW für biomedizinische Verifikationsanalytik erhoben werden, wie beispielsweise die Übereinstimmung von Referenzsubstanzen und Biomarkern aus der Probe hinsichtlich ihres chromatografischen und massenspektrometrischen Verhaltens, wurden einwandfrei erfüllt. Diese Qualitätsbelege verdeutlichten die besondere Eignung beschriebener Peptide als neue Biomarker einer HD-Exposition.
Der Vergleich der über alle positiv getesteten Plasmaproben gemittelten Intensitäten (Peakflächen) aller vier Peptidmarker ergab, dass das Tripeptid C^{34}*PF am intensivsten vertreten und damit am besten nachweisbar war. Folgende relative Intensitätsverhältnisse mit Standardabweichung ließen sich finden [3]:

C^{34}*PF	C^{34}*P	AE^{230}*VSKL	LQQC^{34}*PFEDHVKL
100	40 ± 5	13 ± 6	8 ± 2

Trotz der graduellen Intensitätsunterschiede waren alle Peptide gut und eindeutig detektierbar und belegten die HD-Vergiftung.

Neben der Detektion der oben beschriebenen Peptid-Biomarker wurde noch ein weiteres etabliertes bioanalytisches Verfahren angewandt, um die HD-Inkorporation eindeutig zu belegen. Zu diesem Zweck wurde durch alkalische Hydrolyse TDG von endogenen Proteinen des Plasmas abgespalten und für die GC-MS Analyse derivatisiert. Die Detektion des TDG-Derivates gelang nur in zwei der vier zuvor positiv getesteten Personen (Daten nicht gezeigt), was vermutlich auf die limitierte Empfindlichkeit des GC-MS Verfahrens zurückzuführen war.

Zusammenfassung und Ausblick

Es ist gelungen, reale HD-Vergiftungen in Plasma durch Detektion der etablierten Peptid-Biomarker C^{34}*PF und C^{34}*P sowie durch derivatisiertes TDG zu beweisen. Zusätzlich wurde erfolgreich eine neue Methode entwickelt und etabliert, die es ermöglichte, die zwei neuen Peptid-Biomarker AE^{230}*VSKL und LQQC^{34}*PFEDHVKL nachzuweisen. Die Befunde, die auf diesen vier verschiedenen Biomarkern basierten, waren kongruent, sodass die Eignung und der Wert der neuen Marker unmittelbar dokumentiert wurden. Die zukünftige Forschung wird sich der Suche nach weiteren Markern widmen, um sowohl das Zeitfenster zu erweitern, welches zur Probennahme nach Exposition zu Verfügung steht, als auch um die Empfindlichkeit zu verbessern und die Anzahl möglicher Expositionsbiomarker zu vergrößern.

Kernsätze

- **Eine potenzielle Vergiftung mit dem Hautkampfstoff Schwefellost (HD) wurde bioanalytisch durch Untersuchung von Plasma eindeutig bewiesen.**
- **Ein direkter Nachweis von HD ist schon wenige Tage nach Exposition nicht mehr möglich, da das Gift schnell im Körper umgesetzt und seine Biotransformationsprodukte ausgeschieden werden.**
- **Es wurden zwei etablierte und zwei neue Peptid-Biomarker detektiert, die spezifisch für eine HD-Vergiftung sind.**
- **Die Methoden zur Erfassung der neuen Biomarker erfüllten alle von der Organisation für das Verbot Chemischer Waffen (OVCW) geforderten Qualitätskriterien.**
- **Durch Pepsin werden aus dem alkylierten humanen Serumalbumin ein Hexa- (AE230*VSKL) und ein Dodecapeptid (LQQC34*PFEDHVKL) generiert.**
- **InstPharmToxBw konnte somit als designiertes Labor der OVCW (eines von weltweit nur 17 Laboren) für biomedizinische Verifikation sein Kompetenzspektrum erweitern.**

Literatur

1. Gandor F, Gawlik M, Thiermann H, John H: Evidence of sulfur mustard exposure in human plasma by LC–ESI–MS-MS detection of the albumin-derived alkylated HETE–CP dipeptide and chromatographic investigation of its cis/trans isomerism. J Anal Toxicol 2015; 39: 270-279.
2. John H, Balszuweit F, Kehe K, Worek F, Thiermann H: Toxicokinetic aspects of nerve agents and vesicants. In: Gupta R (ed) Handbook of toxicology of chemical warfare agents, 2nd edn. Academic Press/ Elsevier, Amsterdam, 2015; mpp 817-856.
3. John H, Koller M, Worek F, Thiermann H, Siegert M: Forensic evidence of sulfur mustard exposure in real cases of human poisoning by detection of diverse albumin-derived protein-adducts Arch Toxicol 2019 (in press); DOI 10.1007/s00204-019-02461-2.
4. John H, Siegert M, Gandor F, Gawlik M, Kranawetvogl A, Karaghiosoff K, Thiermann H: Optimized verification method for detection of an albumin-sulfur mustard adduct at Cys34 using a hybrid quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometer after direct plasma proteolysis. Toxicol Lett 2016; 244: 103-111.
5. John H, van der Schans MJ, Koller M, Spruit HET, Worek F, Thiermann H, Noort D.: Fatal sarin poisoning in Syria 2013: forensic verification within an international laboratory network. Forensic Toxicol 2018; 36: 61-71.
6. John H, Willoh S, Hörmann P, Siegert M, Vondran A, Thiermann H: Procedures for analysis of dried plasma using microsampling devices to detect sulfur mustard-albumin adducts for verification of poisoning. Anal Chem 2016; 88: 8787-8794.
7. Noort D, Hulst A, de Jong L, Benschop H: Alkylation of human serum albumin by sulfur mustard in vitro and in vivo: mass spectrometric analysis of a cysteine adduct as a sensitive biomarker of exposure. Chem Res Toxicol 1999; 12: 715-721.
8. OPCW (2015): Report of the OPCW fact-finding mission in Syria regarding alleged incidents in Marea, Syrian Arab Republic August 2015; S/1320/2015. https://www.opcw.org/sites/default/files/documents/Fact_Finding_Mission/s-1320-2015_e_pdf. Accessed 15 Dec 2018.
9. OPCW (2017): OPCW fact-finding mission confirms use of chemical weapons in Khan Shaykhun on 4 April 2017. https://www.opcw.org/media-centre/news/2017/06/opcw-factfinding-mission-confirms-use-chemical-weapons-khan-shaykhun-4. Accessed 15 Dec 2018.
10. OPCW (2018) In response to persistent allegations of chemical weapon attacks in Syria, the OPCW Fact Finding Mission (FFM) was set up in 2014 “to establish facts surrounding allegations of the use of toxic chemicals, reportedly chlorine, for hostile purposes in the Syrian Arab Republic”. https://www.opcw.org/fact-finding-mission. Accessed 15 Dec 2018
11. OPCW (2018) OPCW issues report on technical assistance requested by the United Kingdom, April 12, 2018. https://www.opcw.org/media-centre/news/2018/04/opcwe. Proofing issues-report-technical-assistance-requested-united-kingdom. Accessed 15 Dec 2018
12. OPCW (2018) Statement by H.E. Ambassador Kenneth D. Ward permanent representative of the United States of America to the OPCW at the eighty-sixth session of the executive council, https://www.opcw.org/sites/default/files/documents/EC/86/en/ec86nat06_e_.pdf. Accessed 15 Dec 2018
13. Steinritz D, Striepling E, Rudolf KD, Schröder-Kraft C, Püschel K, Hullard-Pulstinger A, Koller M, Thiermann H, Gandor F, Gawlik M, John H.: Medical documentation, bioanalytical evidence of an accidental human exposure to sulfur mustard and general therapy recommendations. Toxicol Lett 2016; 244: 112-120.

Manuskriptdaten

Erklärung zum Interessenkonflikt
Die Autoren erklären, dass sie keine Interessenkonflikte haben.

Bildquellennachweis
Abbildungen: Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr

Zitierweise
John H, Koller M, Worek F, Thiermann H, Siegert M: Einsatz des Hautkampfstoffs Schwefellost im Nahen Osten: Neue Methoden zum Beweis der Vergiftung. WMM 2019; 63(7): 226-230.

Für die Verfasser
Regierungsdirektor Prof. Dr. Harald John
Institut für Pharmakologie und
Toxikologie der Bundeswehr
Neuherbergstraße 11, 80937 München
E-Mail: haraldjohn@bundeswehr.org

OPCW

Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons (OPCW)

Die OPCW wurde 1997 als internationale unabhängige Organisation gegründet und hat die Aufgabe, die Einhaltung und Umsetzung des Chemiewaffenübereinkommens (CWÜ) zu kontrollieren. Somit hat sich die OPCW, der derzeit 193 Mitgliedstaaten angehören, vier übergeordnete Ziele gesetzt:

1. Zerstörung aller existierenden chemischen Waffen unter internationaler Aufsicht durch die OPCW,
2. Überwachung der chemischen Industrie, um das Wiederauftauchen chemischer Waffen zu verhindern,
3. Schutz von Staaten und Hilfeleistung bei chemischen Bedrohungen und
4. Förderung internationaler Kooperationen zur Stärkung der Implementierung des CWÜ und der friedvollen Nutzung der Chemie.

(www.opcw.org)

CHEMCIAL WAREFARE AGENTS – OLD PROBLEMS AND NEW CHALLENGES

17. Medical Chemical Defence Conference

München, 27. bis 28. März 2019

Ausgerichtet durch das Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr (InstPharmToxBw), fand vom 27. bis 28. März 2019 die internationale Medizinische C-Schutz Tagung (Medical Chemical Defence Conference, MCDC) zum nunmehr 17. Mal an der Sanitätsakademie der Bundeswehr in München (SanAkBw) statt. Mehr als 250 Gäste aus über 25 Ländern waren angereist, um an dem Treffen, das unter dem Motto „Chemical Warfare Agents – old problems and new challenges" stand, teilzunehmen. Die Tagung, die zu den größten und bedeutendsten Fachkonferenzen zum Thema medizinischer C-Schutz weltweit zählt, bot zum wiederholten Male die Gelegenheit zu einem intensiven internationalen Erfahrungsaustausch. In acht Sessions wurden 33 Vorträge zu aktuellen Ereignissen und neuesten wissenschaftlichen Erkenntnissen im medizinischen C-Schutz präsentiert, ergänzt durch die Ausstellung von 50 fachbezogenen Postern. Auch in diesem Jahr wurden die besten drei Poster mit einem Preis ausgezeichnet. Eine erfolgreiche Neuerung der diesjährigen Tagung war die Veranstaltung eines „Science Slams", der unter reger Beteiligung im Rahmen des Konferenz-Icebreakers stattfand.

Major d. R. Dr. Sonja Sichler gewann den „Science-Slam".

Kurz-Zusammenfassungen der einzelnen Programmabschnitte und Rahmenveranstaltungen, des Gewinnerbeitrags Science Slam sowie der Gewinner-Poster finden Sie auf den folgenden Seiten. Die Abstracts der Vorträge stehen unter www.sanitaetsdienst-bundeswehr.de und www.wehrmed.de zum Download zur Verfügung.

MCDC-Icebreaker und „Science Slam"

Bereits vor der offiziellen Kongresseröffnung fand am Abend des 26. März 2019 der MCDC-Icebreaker mit etwa 100 Teilnehmenden im Unteroffizierheim der Ernst-von-Bergmann Kaserne in München statt. Das Programm-Highlight an diesem Abend, der als Plattform für ein ungezwungenes Miteinander und Kennenlernen diente, war der erste „MCDC Science Slam". Bei dieser wissenschaftlichen Version des Poetry Slams mussten die Teilnehmenden innerhalb von maximal sieben Minuten ein Forschungsthema möglichst unterhaltsam, aber trotzdem informativ präsentieren, wobei der Einsatz von Requisiten und verschiedensten Medien die Darstellung unterstützen konnte. Ziel war es, den üblichen Ablauf wissenschaftlicher Präsentationen aufzulockern, aber dennoch fachlich fundierte Erkenntnisse zu vermitteln. Insgesamt sieben Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler aus Deutschland, Kanada, Frankreich und den USA stellten sich mit Bravour dieser Herausforderung und „slammten" zu Themen wie „A philosophy of Science", „Mom is the best – why mother`s milk is good at a ricin poisoning!" oder „TiO_2 Nanoparticles – GIFing insights into nanoparticle toxicity". Die Wahl der besten Präsentation oblag dem anwesenden Publikum, wobei mit Hilfe eines Applaus-O-Meters schließlich der Vortrag mit dem Titel „Molecular Matchmaking" von Major d. R. Dr. Sonja Sichler (InstPharmToxBw) zum Siegerbeitrag gekürt wurde.

Tagungseröffnung

Am Morgen des 27. März 2019 fand im Audimax der Sanitätsakademie die feierliche Eröffnung der 17. Medizinischen C-Schutz Tagung durch Oberstarzt Prof. Dr. Horst Thiermann, Leiter des InstPharmToxBw, statt. In

seinem Grußwort ging er auf die besondere Aktualität der Tagungsthematik ein und umriss die Themenbereiche der Sessions und Highlights im folgenden Tagungsablauf. Oberstarzt Prof. Dr. Thiermann konnte zudem eine Reihe hochkarätiger Gäste aus Politik und Wissenschaft sowie Vertreter der Organisation für das Verbot Chemischer Waffen (OVCW) begrüßen. Eine besondere Ehre war die Teilnahme des Mitglieds des Deutschen Bundestages Stefan Pilsinger, der in seiner Rede den hohen Stellenwert der Aufarbeitung von Zwischenfällen mit chemischen Waffen betonte und die reibungslose Zusammenarbeit mit zahlreichen internationalen Kooperationspartnern lobte. Die Bedeutung des medizinischen C-Schutzes für die Bundeswehr unterstrich die Kommandeurin der Sanitätsakademie, Generalstabsarzt Dr. Gesine Krüger, in ihrem Grußwort zur Eröffnung der Tagung. Sie betonte, dass die Forschung und Entwicklung effektiver Antidote und feldtauglicher diagnostischer Verfahren im Licht der Anschläge im Syrien-Konflikt sowie dem Einsatz von chemischen Kampfstoffen zur gezielten Ausschaltung von Einzelpersonen unbedingte Beachtung finden müssen. Zugleich lobte sie die fortwährend hohe Qualität der bisher geleisteten Forschung und Ausbildung.

Wissenschaftliches Vortragsprogramm

27. März 2019

In der Auftakt-Session der Tagung wurde Geschichtliches und Aktuelles vereint. Prof. Dr. Allister Vale (UK) referierte zum Thema „History of nerve agent releases“, während Dr. Marc-Michael Blum, Vertreter der Organisation für das Verbot Chemischer Waffen (OVCW), über die Aufarbeitung der Nervenkampfstoff-Attacken in Salisbury und Amesbury im Jahr 2018 berichtete. In der sich anschließenden Session unter dem Titel „Innovative approaches in treatment of organophosphate poisoning“ bot zunächst der weitgereiste Dr. Jou-Fang Deng einen Einblick in die Arbeit des National Poison Center of Taiwan, gefolgt von Dr. Zrinka Kovarik aus Kroatien und Dr. Matijn de Koning aus den Niederlanden, die über neue Ansätze in der Entwicklung therapeutischer Antidote berichten konnten. Dr. Florian Nachon, Fachgruppenleiter am Armed Forces Biomedical Research Institute in Frankreich, zeigte in seiner Präsentation die seit Jahren bestehende Therapielücke in der Behandlung von Nervenkampfstoff-Exponierten auf und betonte, dass sich Forschung und Entwicklung besonders dem therapeutischen Potenzial sogenannter katalytischer Bioscavenger zuwenden sollte. Dabei handelt es sich um spezifische Enzyme, die den Nervenkampfstoff im Körper des Patienten binden und spalten, um eine toxische Wirkung zu verhindern. Zum Abschluss der Session stellte das Vortragsteam aus Prof. Dr. Peter Blain und Dr. Steven Emmett von der Newcastle Universität (UK), basierend auf den Ereignissen in Salisbury im Jahre 2018, wichtige Erkenntnisse für das klinische Management Nervenkampfstoff-Exponierter vor.

Ein besonderes Highlight im Verlauf des ersten Konferenztages waren die Kurzpräsentationen der Nominierten für den diesjährigen Poster-Preis. Eine Jury, bestehend aus Vertretern ziviler wissenschaftlicher Einrichtungen aus dem In- und Ausland sowie Fachabteilungen der Sanitätsakademie, hatte bereits im Vorfeld auf der Grundlage der eingereichten Abstracts eine Auswahl der drei vielversprechendsten Beiträge vorgenommen. Aufgabe der Nominierten war es dann, ihre Themen in einer fünfminütigen Kurzpräsentation dem gesamten Fachpublikum vorzustellen sowie während einer Poster-Begutachtung durch die Jury Rede und Antwort zu stehen. Über die Gewinner entschied schlussendlich das gebündelte Urteil aus Jury- und Publikumsbewertung.

Vor der Poster-Präsentation (von links): Oberstarzt Prof. Dr. Horst Thiermann, Sigrid Kuhlmann (Verband der Reservisten der Bundeswehr/Freundeskreis der Bürger für die Bundeswehr HAMM), Generalstabsarzt Dr. Gesine Krüger, MdB Stefan Pilsinger und Oberstarzt Priv.-Doz. Dr. Kai Kehe

Aus dem InstPharmToxBw waren Major d. R. Simone Rothmiller mit der Arbeit „Sulfur Mustard exposure results in chronic senescence in mesenchymal stem cells“ und Hauptmann d. R. Amelie Tsoutsoulopoulos mit dem Beitrag „Evaluation of a novel air-liquid interface exposure system for the aerosolization of the chemical warfare agent sulfur mustard“ in die Schlussauswahl gekommen. Dritte Nominierte war Beatrice Andrae von der Technischen Universität Kaiserslautern, die das Thema „Functionalized sulfonatocalix[4]arenes as scavengers for the detoxification of V-Type nerve agents“ präsentierte. Der erste Platz ging an Hauptmann d. R. Tsoutsoulopoulos, wobei sowohl das Jury- als auch das Publikumsurteil ihren Beitrag als den Besten bewerteten. Die ausführlichen Abstracts und einige Abbildungen zu den Beiträgen finden Sie im Anschluss an den Tagungsbericht. Die

Die Siegerinnen des Posterwettbewerbs (von links): Hauptmann d. R. Amelie Tsoutsoulopoulos (1. Preis), Major d. R. Simone Rothmiller (2. Preis) und Beatrice Andrae (3. Preis)

Ehrung der Gewinnerinnen fand im Rahmen des Konferenz-Dinners statt.
Bevor die Tagungsteilnehmenden in einen entspannten Abschluss des Tages entlassen werden konnten, fanden zwei weitere wichtige und spannende Vortragssessions statt. Dem Konferenzthema entsprechend ging es um „new challenges“, genauer um die Bedrohung durch altbekannte toxische Substanzen, wie Chlorgas und neu aufgekommene sogenannte pharmazeutisch basierte Wirkstoffe, wie Opioide. Hiervon sind sowohl der militärische als auch der zivile Bereich zunehmend betroffen. Der Einsatz von Chlorgas im andauernden Syrienkonflikt gilt als äußerst wahrscheinlich, jedoch gibt es keine eindeutigen analytischen Methoden, um eine Exposition zweifelsfrei nachzuweisen. Dr. Crister Åstot von der Swedish Defence Research Agency stellte einen neuen möglichen Biomarker vor, dessen Eignung zum Nachweis sich bereits in Tierstudien gezeigt hat. Nachfolgend berichteten Dr. Bronwen Jugg vom Defence Science and Technology Laboratory (UK) und Dr. Tobias Zellner von der Technischen Universität München über das klinische Bild Chlorgas-Exponierter sowie mögliche Behandlungsverfahren und neue therapeutische Ansätze.

Opioide rücken als potenziell schädigende Agenzien und durch zunehmenden Missbrauch ebenfalls in den Fokus der Aufmerksamkeit. Ihr Einsatz als Anästhetikum und Analgetikum in der Human- und Tiermedizin unterliegt strengen Regularien, besonders wegen ihres hohen Suchtpotenzials und dem schmalen Grat zwischen therapeutischen und letalen Dosen. In seinem Vortrag „Opioids fundamentals“ gab Dr. Christopher Timperley vom Defence Science and Technology Laboratory (UK) einen umfassenden Überblick über die Vertreter, Eigenschaften, Einsatz und Missbrauchsfälle dieser Stoffgruppe. Dr. Elizabeth Hamelin vom Center for Disease Control (USA) stellte Nachweismöglichkeiten mittels Massenspektrometrie nach Fentanylexposition vor, bevor Dr. Robert Kristovich (US Army Research Development and Engineering Command, USA) in seinem Vortrag umfassende Daten zur Pharmako- und Toxikokinetik des Opioids Carfentanil präsentierte, aus denen die für den Menschen toxische Dosis abgeleitet werden konnte. Der letzte Vortrag der Session von Dr. David Gummin (Medical College of Wisconsin, USA) beschloss auch den ersten Tagungstag und befasste sich mit dem Einsatz von Opioiden zur Erzeugung von Kampfunfähigkeit und damit einhergehenden Überlegungen zu Schutz, Dekontamination und Behandlung potenzieller Opfer.

28. März 2019

Der zweite Tag der 17. MCDC war vor allem durch die Präsentation aktueller Forschungsarbeiten im medizinischen C-Schutz geprägt. In der Auftaktsession „Chemical Warfare Agents: From in vitro to in vivo“ wurden durch Oberfeldarzt Priv.-Doz. Dr. Timo Wille (InstPharmToxBw) und Dr. Benjamin Wong (US Army Medical Institute of Chemical Defence, USA) verschiedene experimentelle Methoden vorgestellt, mit denen die toxischen Effekte chemischer Kampfstoffe untersucht und potenzielle neue Therapeutika evaluiert werden können. Dabei zeigte sich auch, dass viele in vitro bzw. ex vivo Modelle zu einer Reduktion von Tierversuchen in der Arzneimittelentwicklung beitragen können. Dass Tierstudien jedoch noch nicht in allen Bereichen ersetzt werden können, zeigte unter anderem der Beitrag von Dr. Charlotte Whitmore

(Defence Science and Technology Laboratory, UK), die über verschiedene Modelle des klinischen und therapeutischen Managements von Opfern einer Nervenkampfstoff-Vergiftung referierte und dabei aussagekräftige Daten aus experimentellen Tierstudien präsentierte. Zum Abschluss der Session stellte Dr. Richard Schoske von der Defence Threat Reduction Agency des Department of Defence (USA) innovative, feldtaugliche Diagnostikgeräte vor, die zu einer schnellen Erkennung einer Kampfstoff-Exposition im Einsatz beitragen sollen.

Die beiden sich anschließenden Vortragsreihen legten den Schwerpunkt auf den derzeitigen Kenntnisstand und die neuen Entwicklungen im Bereich S-Lost- und Nervenkampfstoff-Vergiftungen.

Prof. Dr. Jeffrey Laskin (Rutgers University School of Public Health, USA) und Prof. Dr. Thomas Gudermann (Ludwig Maximilians Universität München) fokussierten hierbei auf den durch S-Lost induzierten zellulären DNA-Schaden und zeigten Erkenntnisse ihrer Forschungsarbeit hinsichtlich der Beeinflussung des Zellzyklus sowie möglichen S-Lost-Bindungsstellen an spezifischen Proteinen. Über zelluläre Vorgänge infolge der durch S-Lost induzierten pulmonalen Inflammation berichtete Prof. Dr. Debra Laskin (Rutgers University School of Public Health, USA), während Dr. Aswin Mangerich von der Universität Konstanz Methoden zum massenspektrometrischen Nachweis einer S-Lost Exposition vorstellte. Abschließend stellte Oberstleutnant Prof. Dr. Annette Schmidt (InstPharmToxBw) die Forschung ihrer Arbeitsgruppe vor. Diese untersucht, inwiefern die zelluläre Seneszenz der Grund für Wundheilungsstörungen ist, die mit einer S-Lost Exposition einhergehen können. Da die derzeitige Standardtherapie bei Nervenkampfstoffvergiftungen in einigen Fällen nicht effektiv genug ist, wird seit vielen Jahren daran geforscht, neue Therapeutika zu entwickeln bzw. das therapeutische Management der Nervenkampfstoff-Vergiftung zu optimieren. Die bereits eingangs erwähnten katalytischen Bioscavenger stellen derzeit eine der vielversprechendsten Ansätze für neue Therapeutika dar. Interessant waren deshalb die Beiträge von Prof. Dr. Stefan Kubik (Technische Universität Kaiserslautern) und Prof. Dr. Arne Skerra (Technische Universität München), in denen in vitro Wirksamkeitsstudien zu neu entwickelten Small Molecule Bioscavengern präsentiert wurden. Ergänzend berichtete Prof. Dr. Janice Chambers (Mississippi State University, USA) über eine neu entwickelte Generation von sogenannten Oximen, die sich im Falle einer Nervenkampfstoff-Vergiftung vielversprechend als neuroprotektiv zeigten. Abschließend präsentierte Dr. Thomas Seeger (InstPharmToxBw) die Erkenntnisse seiner Arbeitsgruppe zur Wirkungsweise des Nervenkampfstoffs Soman auf die Atmungsmuskulatur.

In der letzten Sitzung der Tagung folgten ausgewählte Vorträge aus verschiedenen Bereichen des medizinischen C-Schutzes in Form von Kurzpräsentationen. Hierbei kam es zu einem spannenden Themenmix aus Fallbeispielen („Acute severe intoxication with cyclopropylfentanyl, a novel synthetic opioid“, Dr. Maren Hermanns-Clausen, Universität Freiburg) und Erfahrungsberichten („Recent sulfur mustard attacks in the Middle East and experiences of

Das Audimax der SanAkBw war während der wissenschaftlichen Vorträge der 17. MCDC gut gefüllt.

Health Professionals“, Priv.-Doz. Dr. Sermet Sezigen, University of Health Sciences, Türkei). Aktuelle in vivo und ex vivo Methoden zur Untersuchung von Vergiftungen mit chemischen Kampfstoffen standen im Fokus von zwei weiteren Vorträgen („Characterizing Carfentanil Intoxication in a Laboratory Primate Model: Behavioural Safety and Efficacy of Naloxone Therapy“, Dr. Todd Myers, US Army Medical Institute of Chemical Defence, und „Using Precision Cut Lung Slices to evaluate treatment strategies for nerve agents“, Dr. Elisabeth Wigenstam, Swedish Defence Research Agency, Schweden).

Als Vertreter der Nachwuchswissenschaftler präsentierte Hauptmann d. R. Markus Siegert (InstPharmToxBw) seine Forschungsarbeit zum Thema „Alkylation of Methionine329 in human serum albumin by sulfur mustard“, die Teil seiner Dissertationsarbeit ist. Den Abschluss bildete mit Kevin Lee (University of Calgary, Kanada) ein weiterer Nachwuchswissenschaftler, der während seines Beitrags zum Thema „Brain perfusion and oxygenation as markers of physiological response to soman exposure in a rat model: A 9.4T MRI and fiber-optic oxygen sensor study“ einen umfangreichen Einblick in die Forschung des kanadischen Kooperationspartners gab.

Poster-Ausstellung

Mehr als 50 wissenschaftliche Poster waren für die 17. MCDC angenommen worden. Im Ausstellungsbereich hatten die Teilnehmenden Gelegenheit, in den Vortragspausen mit den Präsentierenden über deren Arbeit zu diskutieren und so über das formale Programm hinaus an der Weiterentwicklung eines internationalen fachlichen Netzwerks zu arbeiten – ein Ziel, das Veranstaltungen wie die MCDC regelmäßig verfolgen. Diesem Ziel diente auch das Rahmenprogramm der Konferenz.

Rahmenprogramm

Das diesjährige Rahmenprogramm umfasste das Konferenzdinner sowie das sogenannte „Social Event“, das besonders für weitgereiste Gäste immer wieder ein Highlight ist, bietet sich doch die Möglichkeit, auch kulturelle Eindrücke aus dem Gastgeberland mit nach Hause zu nehmen.

Das Konferenzdinner fand in diesem Jahr in angenehmer Atmosphäre in einem Restaurant im Englischen Garten statt. Ein besonderer Glanzpunkt war die musikalische Begleitung des Abends, die das Gebirgsmusikkorps Garmisch Partenkirchen gestaltete. Das Bundeswehr-Quintett erfreute die etwa 200 anwesenden Gäste mit peppigen Jazz-Stücken, die dazu einluden, das Tanzbein zu schwingen.
Ein wichtiger Programmpunkt des Abends war zudem die Verleihung der Poster-Preise, die durch Prof. Dr. Martin Wilks (Universität Basel) und Dr. Ligia Fruchtengarten (Medical Director, Brasilien) vorgenommen wurde.
Ein besonderer Ehrengast beim Dinner war der Abgeordnete des Bayerischen Landtags, Robert Brannekämper, der schon in vergangenen Jahren an der Tagung teilgenommen hatte und ein kurzes Grußwort an die anwesenden Tagungsgäste richtete. Das wiederholt gezeigte Interesse von Landes- und Bundespolitikerinnen und

Die Poster-Ausstellung bot auch während der Pausen Gelegenheit zum ausführlichen fachlichen Dialog.

Beim Konferenz-Dinner herrschte eine entspannte Atmosphäre.

-politikern an der MCDC unterstreicht die Außenwirkung und die Bedeutung des medizinischen C-Schutzes für den zivilen Bereich.

Für die Teilnehmenden am „Social Event“ ging es am Freitag nach der Tagung mit dem Bus zunächst in Richtung Augsburg. Im nahe gelegenen Ort Kirchheim konnte das Schloss Kirchheim mit seinem beeindruckenden Zedernsaal besichtigt werden. Nach einem gemeinsamen Mittagessen in der Stadt Augsburg, bei dem die Gäste noch einmal „typisch deutsche“ Küche genießen konnten, teilte sich die Gruppe: Für die einen folgte eine Stadtführung durch Augsburg, die den Golden Saal im Rathaus sowie die Fuggerstadt als Highlights zeigte. Der andere Teil der Gruppe nahm an einer Führung durch das Jüdische Museum und die beeindruckende Synagoge der Stadt Augsburg teil und beschloss den Tag mit einer weiteren Führung durch die Kunstsammlung des Schäzlerpalais.

Robert Brannekämper, Abgeordneter des Bayerischen Landtags, eröffnete das Konferenz-Dinner.

Fazit

Die 17. Medizinische C-Schutz-Tagung war in mehrfacher Hinsicht ein voller Erfolg. Der Sanitätsdienst der Bundeswehr konnte sich erneut als hervorragender Gastgeber für die „International Scientific Community“ erweisen. Die in Vorträgen und Postern dargebotenen Informationen gaben den aktuellen Wissensstand im Fachgebiet wieder und öffneten in einigen Bereichen die Tür zur Lösung von Problemen, mit denen sich die Medizin seit dem ersten Einsatz von chemischen Kampfstoffen im 1. Weltkrieg konfrontiert sieht. Besonders für den wissenschaftlichen Nachwuchs bestand die Möglichkeit, die eigene Forschungsarbeit zu präsentieren, darüber zu diskutieren und so neue Impulse zu erhalten und zu geben. Und nicht zuletzt konnte das Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr die auch im internationalen Vergleich ausgezeichnete Fachexpertise, über die der Sanitätsdienst der Bundeswehr mit dieser Ressortforschungseinrichtung verfügt, unter Beweis stellen.

Oberstabsveterinär Dr. Julia Herbert
E-Mail: juliaherbert@bundeswehr.org

17. MCDC – AUSGEWÄHLTE BEITRÄGE

Poster: Evaluation of a novel air-liquid interface exposure system for the aerosolization of the chemical warfare agent sulfur mustard

Amelie Tsoutsoulopoulos[*], Tanja Popp[#], Markus Siegert[*], Tabea Zubel[+], Harald John[*], Aswin Mangerich[+], Annette Schmidt[*, §], Harald Mückter[‡], Thomas Gudermann[‡], Horst Thiermann[*], Dirk Steinritz[*, ‡]

Introduction

Sulfur mustard (SM) is a highly toxic chemical warfare agent that has been repeatedly used in current conflicts (e.g. Syria 2015) despite being banned by the Chemical Weapons Convention (CWC) since 1997. Severe acute and long-term dysfunctions and health effects can be observed after contact with liquid, vaporous or nebulized SM. In particular, the respiratory effects are extremely challenging from a medical perspective.

As human exposure data are limited and translation of animal data to humans are difficult or even flawed due to critical differences (e.g. respiratory physiology and anatomy), recent research has focused on suitable *in vitro* exposure methods that represent a valuable alternative for explorative toxicological *in vivo* studies. Most exposure systems are thereby exposing cells under submerged conditions where the test substances are dissolved or suspended directly in the cell culture medium covering the cells. Such approaches may be flawed because they can affect and alter the physico-chemical properties of a compound and thus, the toxic properties of a test substance. Air-liquid interface (ALI) *in vitro* inhalation models, however, mimic the human exposure at a cellular level with higher biological and physiological similarity than submerged exposure experiments. So far, it is unclear, whether the enhanced experimental complexity of ALI exposure is superior to submerged exposures. Moreover, aerosolization of SM represents a major challenge to scientists due to the extreme toxicity of SM, the safety precautions to be observed and the homogenous distribution of the SM aerosol.

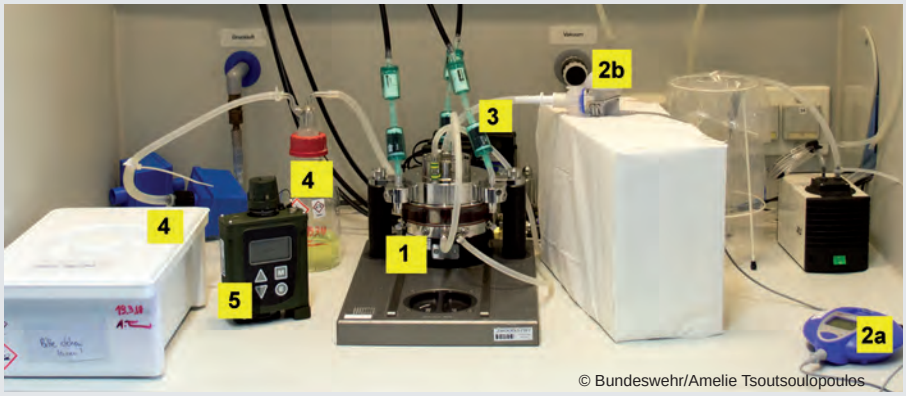
* Bundeswehr Institute of Pharmacology and Toxicology, Munich, Germany
# Bundeswehr Institute of Radiobiology, Munich, Germany
+ Molecular Toxicology Group, Department of Biology, University of Konstanz, Germany
§ Bundeswehr University Munich, Faculty of Human Sciences, Neubiberg, Germany
‡ Walther-Straub-Institute of Pharmacology and Toxicology, LMU, Munich, Germany

Aim

Aim of our study was the establishment, validation and application of an appropriate *in vitro* exposure system that meets all necessary safety requirements for the exposure of cultivated human lung cells to nebulized SM aerosols at the ALI. Furthermore, we analyzed whether exposing cells at the ALI is feasible and favorable compared to the classic submerse SM exposure.

Materials and Methods

1. Establishment of the exposure system (see Figure 1)
2. Verification of the homogeneous distribution of the nebulized aerosol in our exposure system using Coomassie blue
3. Exposure of human epithelial lung cells to SM aerosols (0.1-10 mM) under submerse or ALI conditions
4. Determination and comparison (submerse / ALI) of cell viability after exposure using the WST-1 assay
5. Detection of SM-specific DNA-adducts by antibody staining and mass spectrometry



© Bundeswehr/Amelie Tsoutsoulopoulos

Figure 1: Overview of the test setup: (1) CULTEX® RFS (exposure module containing the cell culture inserts); (2) eFlow® rapid nebulizer system consisting of (a) the control unit and (b) the nebulizer; (3) activated carbon filters and (4) sodium hypochlorite as decontamination units; (5) chemical warning device LCD3.3

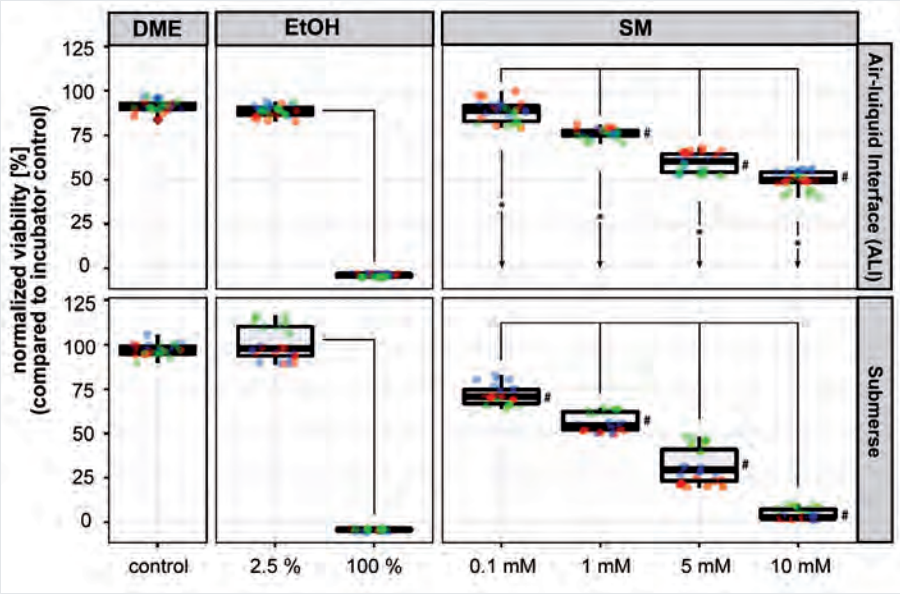


Figure 2: Viability of A549 cells after ALI and submerse SM exposure. Cell viability is expressed in % in relation to the incubator controls that were normalized to 100 %. The upper boxplots represent the mean results of the cells exposed to SM under ALI conditions (4 exposure experiments, each with 3 inserts per condition, resulting in n=12). The lower boxplots show the mean results of cells exposed under submerged conditions (3 exposure experiments, each with 3 inserts per condition, resulting in n=9). # indicates significant differences ($p < 0.01$) between SM concentrations and DMEM control; lines indicate significant differences ($p < 0.01$) between concentration groups, and asterisks/arrows between ALI and submerse groups.

Results

Viability of cells after ALI and submerse SM exposure
A549 cells were exposed to SM under submerged or ALI conditions. Exposure times and SM concentrations were kept identical between both exposure routes in order to compare the two experimental approaches. Exposure of cells to SM resulted in a dose-dependent decrease of cell viability. The cytotoxicity in ALI experiments was significantly lower compared to the submerged exposures at comparable SM concentrations (see Figure 2).

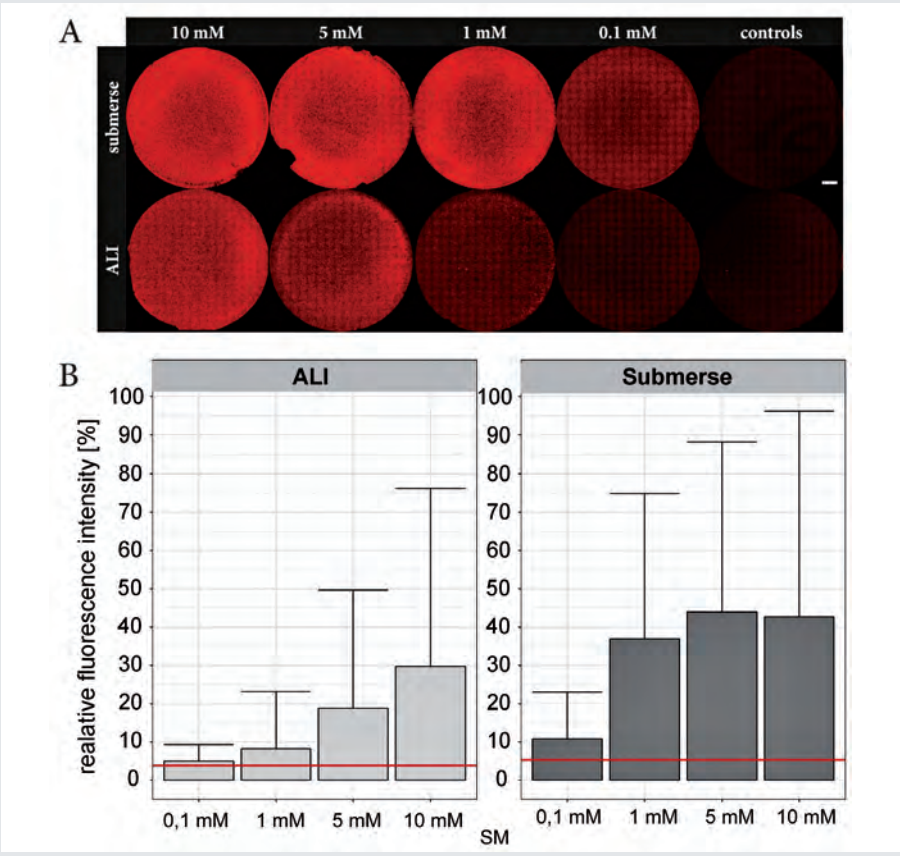


Figure 3: Detection of DNA-adducts after SM exposure by immunocytochemical staining using the 2F8 antibody. A) Homogenous distribution of DNA-adducts, visualized on all SM-exposed cell membranes. Fluorescence intensity of DNA-adducts was visualized by laser scanning microscopy. B) Relative fluorescence intensities increased with increasing SM concentrations, whereby submerged SM-exposed cells showed higher fluorescence intensities than cells exposed to the same SM concentrations at the ALI. Red horizontal lines indicate background fluorescence levels, error bars represent standard deviations (representative result from n=3).

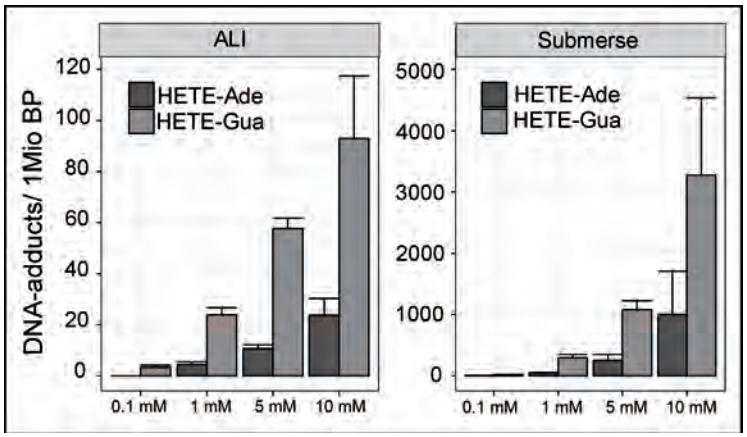


Figure 4: Detection of DNA-adducts after SM exposure using the µLC-ESI MS/HR MS. Amount of DNA damage per $1x10^6$ bases increased with increasing SM concentrations. Significant differences in DNA damage were measurable between cells exposed to SM under submerged conditions or at the ALI. Cells from three independent experiments (with three inserts per experiment) were pooled per SM concentration and exposure route (n=9). Error bars represent standard deviations.

Qualitative detection of DNA-adducts after SM exposure by immunocytochemical staining using the 2F8 antibody

Visualization of DNA-adducts on all SM-exposed cell membranes revealed a homogenous exposure of cells, both under submerged as well as under ALI conditions. A weaker staining of adducts under ALI conditions was already macroscopically visible (see Figure 3A).

The fluorescence intensities of DNA-adducts were densitometrically evaluated by laser scanning microscopy. A concentration-dependent increase of the relative fluorescence intensity after SM exposure was observed in both exposure groups, but was significantly higher in submerged exposed cells (see Figure 3B).

Horizontal lines in Figure 2B indicate background fluorescence levels, error bars represent standard deviations. The high standard deviation does not interfere with the homogeneity of the DNA-adducts. This is due to a distinct variation of fluorescence intensities because cell confluency was below 100 % and 2F8 staining was located in the nuclei.

Quantitative detection of DNA-adducts after SM exposure using µLC-ESI MS/HR mass spectrometry

SM-induced DNA alkylation was analyzed as a marker for cell damage by µLC-ESI MS/HR MS-based detection of HETE-Ade and HETE-Gua DNA-adducts. In line with the viability data and the immunocytochemical staining, increasing SM concentrations led to increasing amounts of DNA-adducts (HETE-Ade and HETE-Gua). Comparing the amount of DNA alkylation per $1x10^6$ base pairs between ALI-exposed and submerse-exposed cells revealed a distinct higher DNA damage in submerged exposed cells (see Figure 4).

Conclusion

Our results present the first *in vitro* exposure of cultivated human lung cells to nebulized SM aerosols under ALI conditions. We proved the safe applicability of our ALI exposure system, and the reproducible and stable generation and homogenous distribution of the nebulized SM aerosol. Clear dose-response relationships can be derived. Lower doses of SM reached the cells during ALI exposure in our setup compared to the submerged exposure but were sufficient to cause cytotoxicity and DNA-adduct formation. Our exposure system represents a scenario which is closer to the physiological conditions after an *in vivo* exposure to the agent compared to the *in vitro* submerged exposure.

References

1. Tsoutsoulopoulos A, Siegert M, John H, Zubel T, Mangerich A, Schmidt A, Mückter H, Gudermann T, Thiermann H, Steinritz D, Popp T: A novel exposure system generating nebulized aerosol of sulfur mustard in comparison to the standard submerse exposure. Chem Biol Interact. 2019; 298: 121-128.
2. Tsoutsoulopoulos A, Möhle N, Aufderheide M, Schmidt A, Thiermann H, Steinritz D: Optimization of the CULTEX® Radial Flow System for in vitro investigation of lung damaging agents. Toxicol Lett. 2016;244: 28-34.
3. Steinritz D, Möhle N, Pohl C, Papritz M, Stenger B, Schmidt A, Kirkpatrick CJ, Thiermann H, Vogel R, Hoffmann S, Aufderheide M: Use of the Cultex® Radial Flow System as an in vitro exposure method to assess acute pulmonary toxicity of fine dusts and nanoparticles with special focus on the intra- and inter-laboratory reproducibility. Chem Biol Interact. 2013; 206: 479-490.

Manuscipt data

The poster was awarded the 1. price of the 17. MCDC poster competition.

Citation

Tsoutsoulopoulos et al.: Evaluation of a novel air-liquid interface exposure system for the aerosolization of the chemical warfare agent sulfur mustard. WMM 2019; 63(7): 238-240.

For the authors

Captain (res.) Amelie Tsoutsoulopoulos, M. Sc.
E-Mail: amelie1tsoutsoulopoulos@bundeswehr.org

Poster: Sulfur mustard exposure results in chronic senescence in mesenchymal stem cells

Simone Rothmiller[*, #], Niklas Jäger[*], Alexander Bürkle[#], Dirk Steinritz[*, +], Horst Thiermann[*], Annette Schmidt[*, ‡]

Introduction

Chronic wound healing disorder is a major problem after sulfur mustard (SM) exposure. Bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSC) might be involved in this process because of their essential role in wound healing [1]. We hypothesize that SM urges MSC to undergo chronic senescence. As a result, they may persist over long time periods and secrete proinflammatory cytokines known as the senescence-associated secretory phenotype (SASP). In this study, we analyzed whether SM is able to induce senescence in MSC and if already described senolytic drugs selectively eliminate these senescent cells.

Methods

Human MSC were isolated from bone marrow of femoral heads and the isolation efficiency was confirmed by cell surface markers via flow cytometry[1]. MSC were exposed to single doses of SM (1-40 µM) or H_2O_2 (200 µM) and senescence-associated β-galactosidase (SA-β-gal) was stained. Clonogenicity was determined by crystal violet staining and migration by IncuCyte microscope. Senescent and non-senescent MSC were treated with senolytics and cell survival was assessed by XTT assay.

Results

Senescent MSC were visible by SA-β-gal staining (Figure 2) 7 days after single dose SM treatment in this assay and the number of senescent cells as well as the

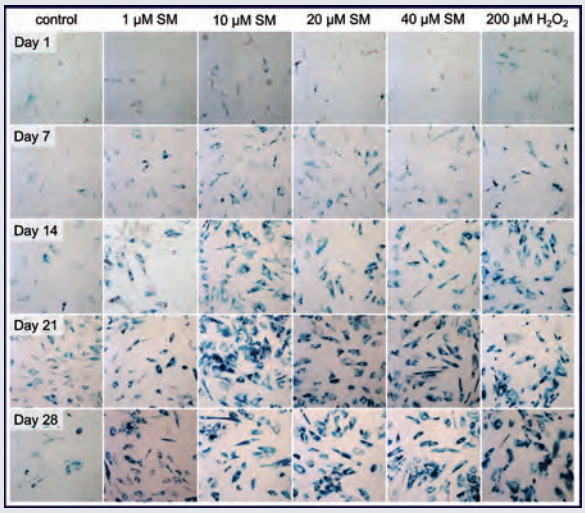


Figure 2: Time- and concentration dependence of senescence induction. Senescent cells were stained blue by SA-β-gal staining and all cells were counterstained with nuclear fast red.

[*] Bundeswehr Institute of Pharmacology and Toxicology, Munich, Germany
[#] University of Konstanz, Molecular Toxicology Group, Department of Biology, Konstanz, Germany
[+] Walther Straub Institute of Pharmacology and Toxicology (LMU), Munich, Germany
[‡] Bundeswehr University Munich, Department for Sports Sciences, Neubiberg, Germany

[1] **Isolation of MSC:** Bone marrow was scraped from femoral heads and resuspended in medium. Cells were separated using a 70 µm cell strainer. Ficoll® was overlaid with the cell suspension and separation was obtained by density gradient centrifugation, after which MSCs are enriched in the interphase. Finally, cells were plated and grown on cell culture dishes.

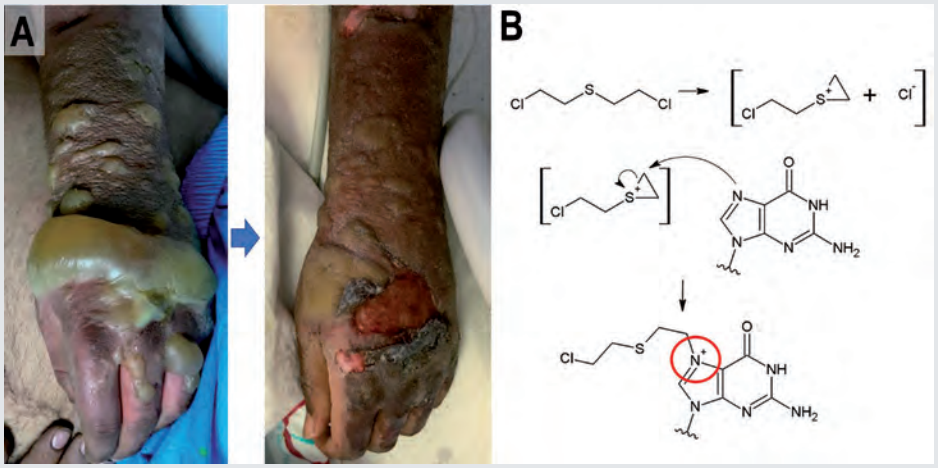


Figure 1: Pathomechanism of SM: Blister formation occurs time- and concentration-dependent after SM exposure resulting in chronic wound healing disorders (A, adapted from [2]). SM forms a sulfonium ion which alkylates DNA bases, for example at the N7 position (red circle) of guanine (B).

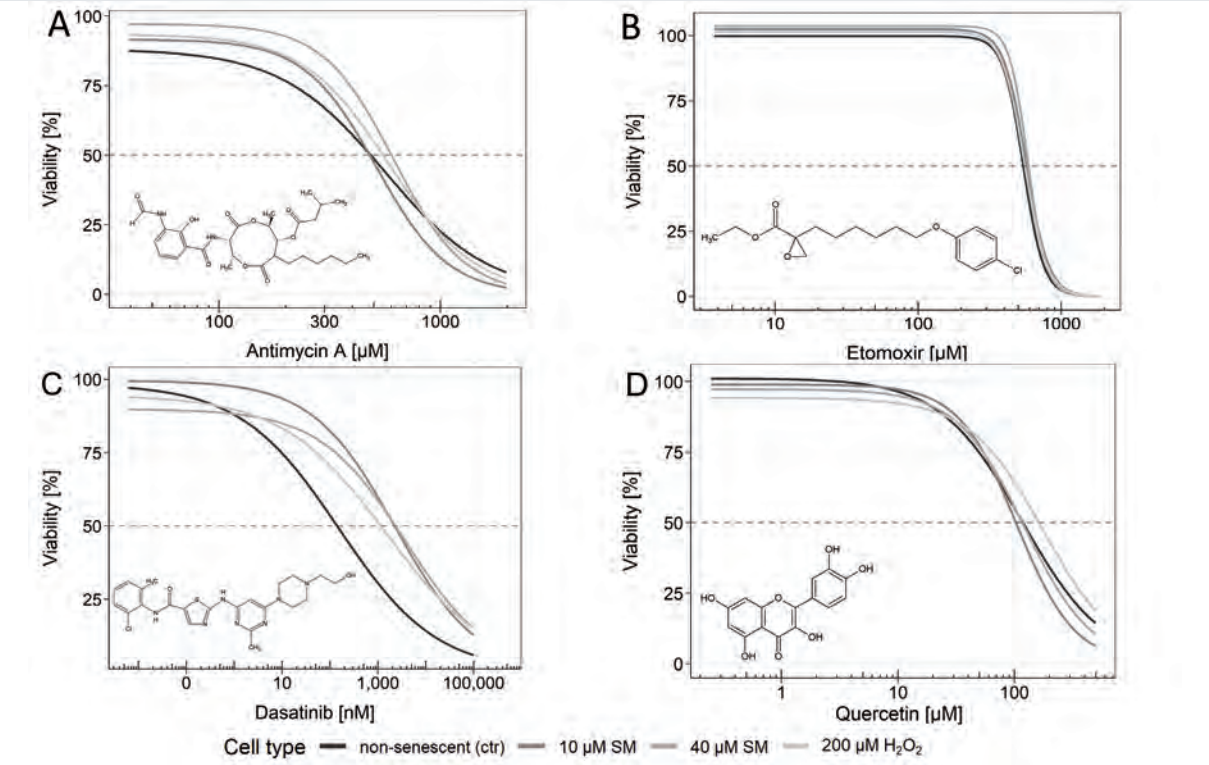


Figure 3: Selective removal with senolytic drugs (examples): The cell survival after treatment with antimycin A (A), etomoxir (B), dasatinib (C) and quercetin (D) was assessed with the XTT assay.

intensity of the staining increased until day 14. At this time, about 100 % of all cells were senescent at the higher SM concentrations tested (10, 20 and 40 µM).
Prolonged incubation of these cells did not result in any obvious changes in senescent state up to day 28 for those cells. In contrast, 1 µM SM treatment seemed to be less effective because there were many non-senescent cells visible. MSC treated with the positive control H_2O_2 also showed a sustained senescence.
Clonogenic potential of senescent cells was significantly reduced when compared to controls. Migration of cells was observed in real time with the IncuCyte microscope and the amount of migrated senescent cells was significantly, about 3-fold, reduced when compared to controls after 160 hours (data not shown).
The drugs antimycin A, etomoxir, dasatinib, quercetin (see figure 3), ABT-263, ABT-737, FOXO4-DRI, and 17-DMAG, which were already shown to be senolytic, did not reduce the survival of SM-induced senescent cells significantly, when compared to non-senescent MSC.

Conclusions

SM single dose exposure is sufficient to induce chronic senescence in human MSC. These SM-induced senescent MSC may be unable to fulfill their regenerative role and contribute to the wound healing disorder. Selective removal of these cells might improve wound healing. The tested senolytic drugs are not adequate therapeutic candidates in SM poisoning. This may be due to the variability between senescence inducers and cell types used in other studies. Further research is necessary to identify other mechanisms to selectively remove senescent cells which would be an innovative treatment strategy after SM exposure.

References

1. Fathke C et al.: Contribution of bone marrow-derived cells to skin: Collagen deposition and wound repair. Stem cells 2004, 22, 812-822.
2. Kilic E et al.: Acute intensive care unit management of mustard gas victims: The Turkish experience. Cutaneous and ocular toxicology 2018, 37, 332-337.

Manuscript data

The poster was awarded the 2. price of the 17. MCDC poster competition.

Citation
Rothmiller S et al.: Sulfur mustard exposure results in chronic senescence in mesenchymal stem cells. WMM 2019; 63(7): 241-242.

For the authors
Major (res.) Simone Rothmiller, M. Sc.
E-Mail: simonerothmiller@bundeswehr.org

Poster: Functionalized Sulfonatocalix[4]arenes as Scavengers for the Detoxification of V-Type Nerve Agents

Beatrice Andrae[*], Daniel Bauer[*], Patrick Gaß[*], Christian Schneider[*], Anne Bierwisch[#], Marianne Koller[#], Franz Worek[#], Stefan Kubik[*]

Background and Motivation

Among the neurotoxic organophosphates (NOPs) that were developed as chemical warfare agents, VX and related derivatives are the most persistent and toxic compounds. A promising strategy to treat nerve agent poisonings relies on the administration of a scavenger that detoxifies the NOP before it can exert its toxic effects [1]. Our approach to develop such scavengers involves the use of macrocycles with a nucleophilic group that can bind and subsequently deactivate V-type nerve agents.

Methods and Results

We used sulfonatocalix[4]arenes as macrocyclic scaffolds for the development of VX scavengers because of their high affinity for ammonium ions in water. A suitable group is attached to these macrocyclic scaffolds that mediates the detoxification of the nerve agent.

Scavenger Synthesis

The required aminocalix[4]arene precursor was synthesized in a 6-step reaction from the commercial *tert*-butyl-calix[4]arene. The last step of the synthesis is the coupling of this aminocalixarene with different carboxylic acids bearing also protected hydroxamic acid groups. In this way, several scavengers could be obtained.

Binding Studies

Binding studies performed in Munich showed that the protected hydroxamic acid **Me-1** binds to VX with an affinity of 77.6 µM.

According to binding studies performed in Kaiserslautern, the tetrasulfonatocalix[4]arene binds with the DIPEA hydrochloride with a dissociation constant of 3.2 µM. The respective ammonium salt was used as an analogue of VX. Thus, the reduction of the number of sulfonate groups around the calixarene ring, associated with the introduction of the hydroxamic acid, reduces the cation affinity of the calixarene.

Half-Lives of Nerve Agent Detoxification

The rates of the detoxification of V-type nerve agents, mediated by six different calixarene derivatives **1-6,** were determined in TRIS-HCl buffer (0.1 M, pH = 7.4) at 37 °C by using an *in vitro* enzymatic assay. The obtained half-lives of detoxification are summarized in Table 1.

Conclusions

Beside our best scavenger 1 [2], which detoxifies VX at pH 7.4 and 37 °C with a half-life of approximately 3 min, several structurally related calixarene-based scavengers were synthesized. The replacement of the heterocyclic unit in **1** with acyclic hydroxamic acids leads to a drop of

[*] Technical University of Kaiserslautern, Department of Chemistry, Kaiserslautern, Germany
[#] Bundeswehr Institute of Pharmacology and Toxicology, Munich, Germany

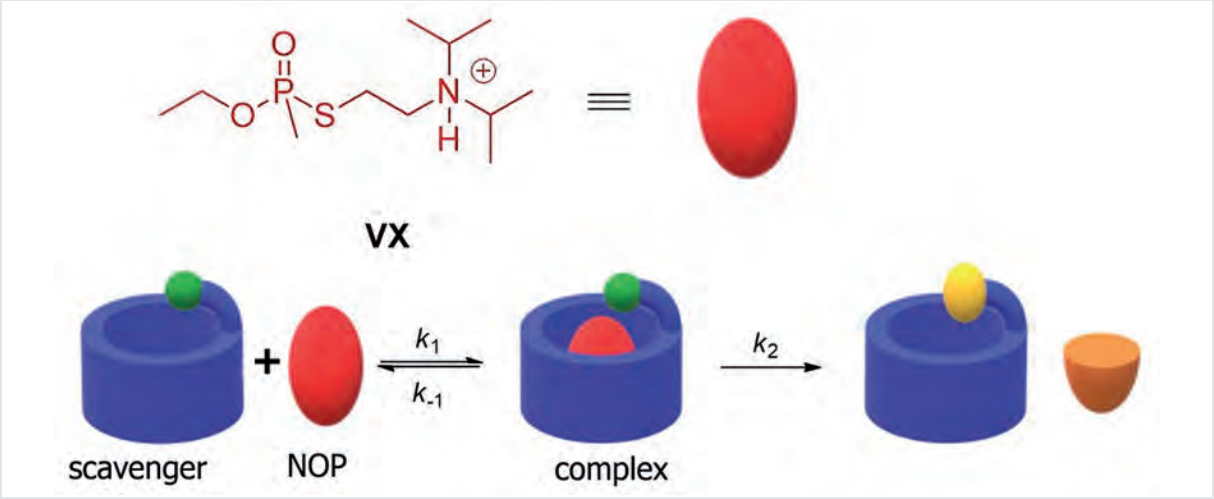


Figure 1: Mode of action of the targeted scavengers that involves an initial binding step and a subsequent chemical reaction with the bound NOP.

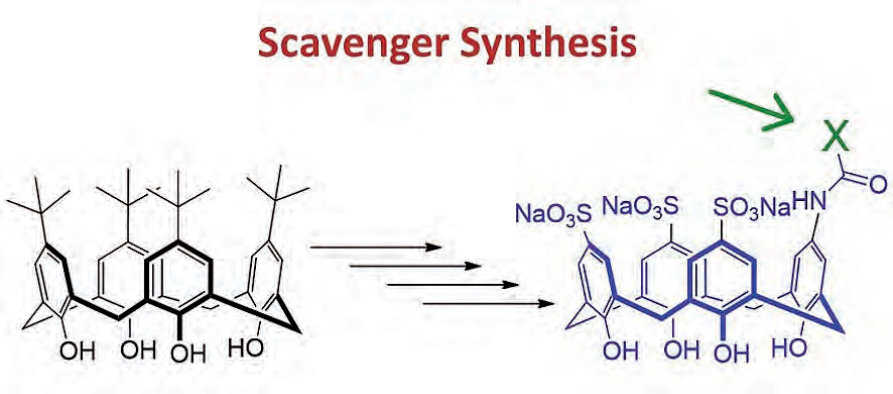


Figure 2: The starting material (left) was converted in a multi-step synthesis to yield a calixarene derivative (right) containing a nucleophilic group X connected to the macrocyclic scaffold via an amide.

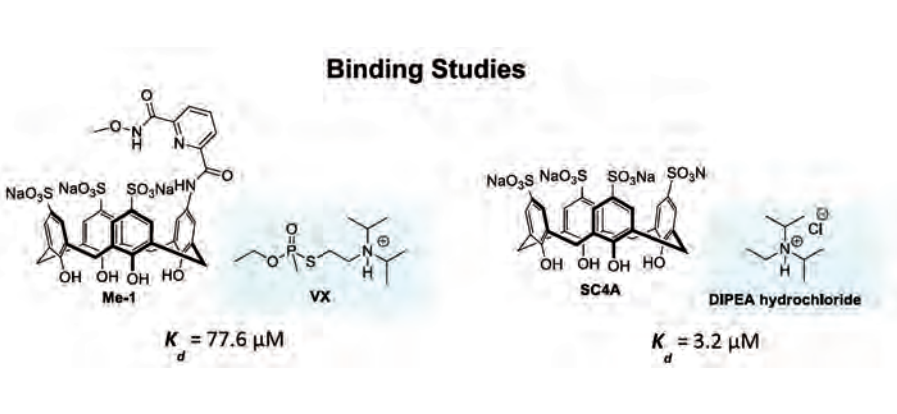


Figure 3: Dissociation constants of the complexes between inactive calixarene derivative **Me-1** and VX and between calixarene tetrasulfonate **SC4A** and DIPEA hydrochloride that was used as a surrogate for VX.

Table 1: Half-lives of the detoxification of the V-type nerve agents in the presence of calixarenes **1-6** in min

Molecule No.	VX	VR	CVX
1	3.7	3.4	2.8
2	7.5	28.6	25.0
3	14.5	40.4	30.4
4	>120	-	-
5	16.2	36.7	34.3
6	198	227	160

activity. Cyclic *N*-alkylated hydroxamic acids show a surprisingly large activity, which is, however, still lower than that of scavenger **1**.

References

1. Mercey G, Verdelet T, Renou J et al.: Reactivators of Acetylcholinesterase Inhibited by Organophosphorous Nerve Agents. Acc. Chem. Res. 2012; 45: 756-766.
2. Schneider C, Bierwisch A, Koller M, Worek F, Kubik S: Detoxification of VX and Other V-Type Nerve Agents in Water at 37 °C and pH 7.4 by Substituted Sulfonatocalix[4]arenes. Angew. Chem. Int. Ed. 2016; 55: 12668-12672.

Acknowledgment

This research was supported by contracts with the Bundeswehr (E/UR2W/CF511/9A803, E/U2AD/GD008/GF565).
We also thank Ms. Madlen Baumann (Bundeswehr Institute of Pharmacology and Toxicology, Munich) for half-life measurements.

Manuscript data

The poster was awarded the 3. price of the 17. MCDC poster competition.

Citation
Andrae B: Functionalized Sulfonatocalix[4]arenes as Scavengers for the Detoxification of V-Type Nerve Agents. WMM 2019; 63(7): 243-244.

For the authors
Beatrice Andrae
E-Mail: andrae@chemie.uni-kl.de

Molecular Matchmaking

Sonja Sichler*

Einleitung

Der wiederholte Einsatz von Sarin im syrischen Bürgerkrieg sowie die hohe jährliche Inzidenz von Vergiftungen mit phosphororganischen Pestiziden belegen, dass auch heute noch eine ernstzunehmende Gefahr von phosphororganischen Verbindungen bzw. Organophosphaten gegen Militär und Zivilbevölkerung ausgeht. Im Vergiftungsfall bedarf es einer raschen und vor allem effektiven Therapie.

Grenzen der bisherigen Therapie

Organophosphate inaktivieren das Enzym Acetylcholinesterase (AChE), wodurch sich der Neurotransmitter Acetylcholin im synaptischen Spalt anhäuft und dauerhaft muskarinische wie nikotinische Acetylcholinrezeptoren (mAChRs bzw. nAChRs) aktiviert. Die Überreizung dieser Rezeptoren ist ursächlich für die Symptome einer Organophosphat (OP)-Vergiftung, darunter Miosis, Bronchokonstriktion und Muskelkrämpfe, die in schweren Fällen zum Tod durch Atemlähmung führen. Die Pharmakotherapie von OP-Vergiftungen beinhaltet die Gabe eines Oxims, wie z. B. Obidoxim bzw. Pralidoxim, sowie von Atropin als Antidot. Letzteres wirkt als Antagonist der Überstimulation muskarinischer Acetylcholinrezeptoren entgegen. Des Weiteren wird ein Oxim zur Reaktivierung der AChE verabreicht. Die Wiederherstellung der Enzymfunktion ist allerdings – abhängig von der Struktur des Organophosphats sowie von der Zeit, welche zwischen Organophosphat-Aufnahme bis zur medikamentösen Intervention verstrichen ist – nicht in jedem Fall effektiv. In einigen Fällen hält die Überaktivierung des nikotinischen Acetylcholinrezeptors daher an, wobei dieser schließlich in einen nicht-funktionalen, desensitisierten Zustand übergeht, welcher bislang therapeutisch nicht angesteuert werden kann.

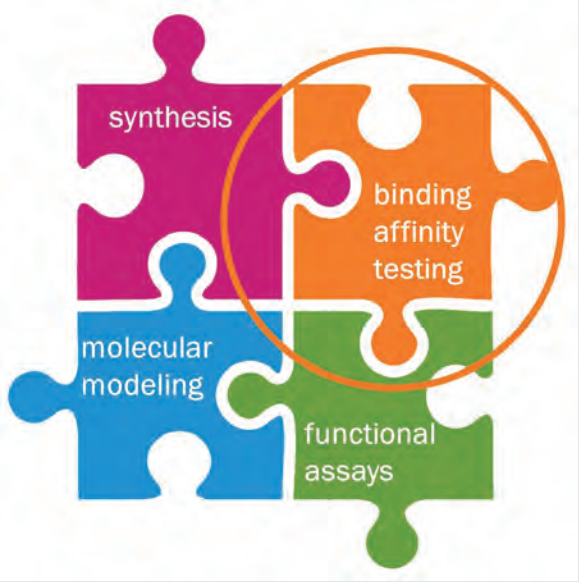


Abb. 1: MS-Bindungsassays als Teil eines kooperativen Forschungsprojekts

Abb. 2: Partner des kooperativen Forschungsprojektes

Neue potenzielle Antidote

Als sehr vielversprechende Therapieform erscheint deshalb eine direkte pharmakologische Intervention am desensitisierten nAChR, um diesen wieder in eine funktionale Form zu überführen. In funktionalen Messungen, durchgeführt von Niessen et al. [1], auf einer sogenannten SURFE^{2}R -Plattform[1] für indirekte elektrophysiologische Messungen, erwies sich dieses bereits als möglich. MB327, eine 4-*tert-B*utyl-substitutierte Bispyridiniumverbindung, zeigte hier die Fähigkeit, den desensitisierten nAChR wiederherzustellen. Der therapeutische Effekt der Bispyridiniumverbindung konnte außerdem bereits in *ex-vivo*, *in-vitro* sowie *in-vivo* Studien demonstriert werden [2, 3]. Da vorangegangene Studien zeigten, dass MB327 nur schwach an die orthosterische, d. h. Agonisten-Bindungsstelle, bindet, scheint dessen funktionelle Aktivität über eine allosterische Modulation am nAChR vermittelt zu werden. Im Rahmen eines kooperativen Forschungs-

*Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr, München

[1] SURFE^{2}R = Surface Electrogenic Event Reader

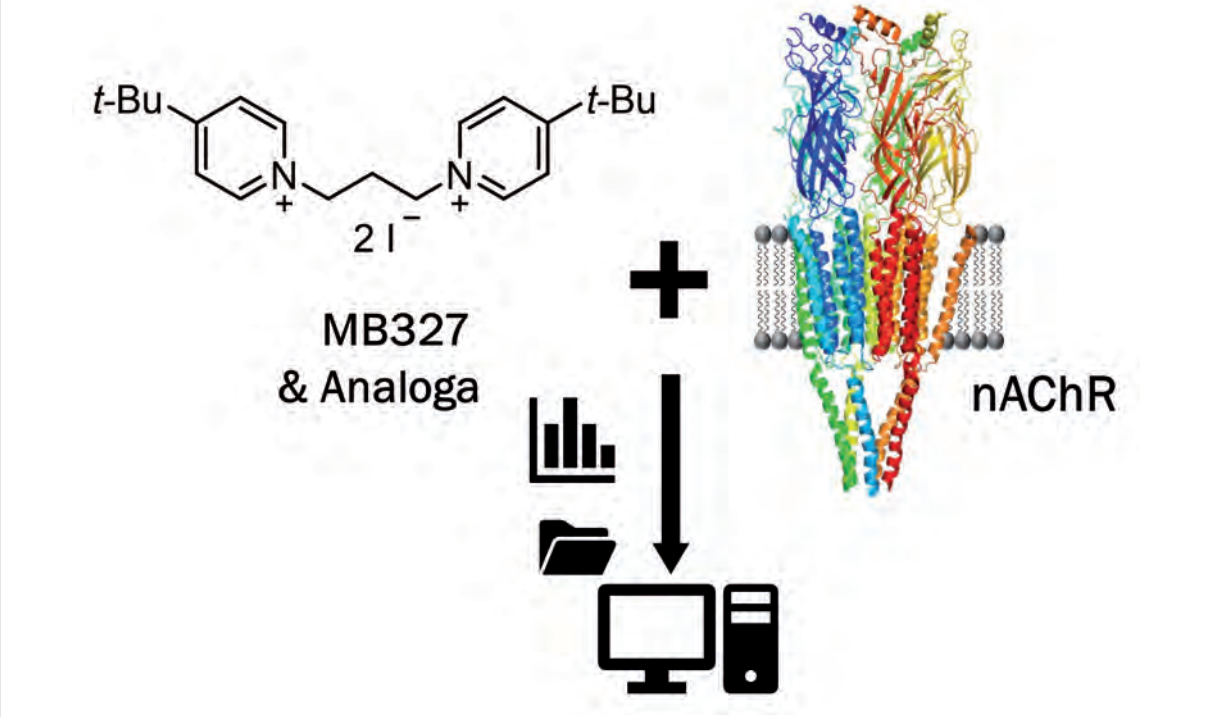


Abb. 3: Entwicklung erster Struktur-Affinitätsbeziehungen über die Synthese neuer Bispyridiniumverbindungen auf der Basis von HB327 (HB327-Analoga) und Testung dieser Verbindungen in MS-Bindungsarrays

projekts (Abbildung 1 und 2) einer Forschungsgruppe um Prof. Dr. Klaus T. Wanner, Lehrstuhl für pharmazeutische Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München, mit der Arbeitsgruppe von Oberfeldapotheker Dr. Karin Niessen, Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr (InstPharmToxBw) in München, gelang es erstmals, die MB327-Bindestelle am nAChR zu charakterisieren.

Erfolgreiche Kooperation

MS-Bindungsassays, d. h. Bindungsstudien mit massenspektrometrischer Detektion des Reporterliganden, welche im Zuge dieses Projekts entwickelt wurden, machten diese Charakterisierung möglich. Sie erlauben darüber hinaus eine routinemäßige Affinitätscharakterisierung weiterer Liganden an der MB327-Bindungsstelle. Die ermittelte Affinität von MB327 (die Inhibitionskonstante K_i lag hier bei knapp 18 µM) zeigte eine gute Übereinstimmung mit funktionellen und pharmakologischen Studien [4]. Durch die Affinitätscharakterisierung weiterer MB327-Strukturanaloga, die im Rahmen des Projekts durch Major d. R. Dr. Sebastian Rappenglück synthetisiert wurden, war es außerdem möglich, erste Struktur-Affinitätsbeziehungen (siehe Abbildung 3) an der MB327-Bindestelle aufzustellen [5, 6]. Somit lieferte das Kooperationsprojekt eine erste, breite Datenbasis für die zielgerichtete, strukturbasierte Entwicklung neuer Antidote gegen OP-Vergiftungen.

Literatur

1. Niessen KV et al.: Functional analysis of Torpedo californica nicotinic acetylcholine receptors in multiple activation states by SSM-based electrophysiology. Toxicol. Lett. 2016; 247: 1-10.
2. Seeger T. et al.: Restoration of soman-blocked neuromuscular transmission in human and rat muscle by the bispyridinium non-oxime MB327 in vitro. Toxicology 2012; 294: 80-84.
3. Timperley CM et al.: 1,1'-(Propane-1,3-diyl)bis(4-tert-butylpyridinium) di(methanesulfonate) protects guinea pigs from soman poisoning when used as part of a combined therapy. Med. Chem. Commun. 2012; 3: 352-356.
4. Sichler S et al.: Development of MS Binding Assays targeting the binding site of MB327 at the nicotinic acetylcholine receptor. Toxicology Letters 2018; 293: 172-183.
5. Rappenglück S et al.: Synthesis of a Series of Structurally Diverse MB327 Derivatives and Their Affinity Characterization at the Nicotinic Acetylcholine Receptor. ChemMedChem 2018; 13: 1806-1816.
6. Rappenglück S et al.: Synthesis of a Series of Non-Symmetric Bispyridinium and Related Compounds and Their Affinity Characterization at the Nicotinic Acetylcholine Receptor. ChemMedChem 2018; 13: 2653-2663.

Manuskriptdaten

Der Beitrag belegte den 1. Platz im Science Slam-Wettbewerb.

Zitierweise
Sichler S et al.: Molecular Matchmaking. WMM 2019; 63(7): 245-246.

Für die Verfasser
Major (res.) Dr. Sonja Sichler, M. Sc.
E-Mail: sonjasichler@bundeswehr.org

QUALITÄTSMANAGEMENT IN DER TRUPPENÄRZTLICHEN PRAXIS

Sanitätsversorgungszentrum Beelitz erfolgreich nach KTQ® zertifiziert

Mit der Zertifikatsnummer 2018-0075-PRAX-MZV wurde das Sanitätsversorgungszentrum Beelitz nach KTQ® zertifiziert. Dieses Zertifikat gilt nunmehr vom 29. November 2018 bis zum 28. November 2021. Die „Beelitzer“ sind damit die erste zertifizierte Regionale Sanitätseinrichtung der Bundeswehr.

Es ist nicht das erste Mal, dass das Sanitätsversorgungszentrum (SanVersZ) Beelitz im Mittelpunkt eines Beitrags in der Wehrmedizinischen Monatsschrift steht. Auf große Resonanz stieß z. B. der Beitrag zur „Truppenarzt-Sonografie“ im Jahre 2016 [1] sowie eine Darstellung des Truppenarztes selbst als modernen „Generalisten“ [2] zwei Jahre später. Konsequent wird in Beelitz nach Möglichkeiten gesucht, die Chancen des integrierten medizinischen Versorgungssystems „Sanitätsdienst“ auszuloten und zum Wohle der Patientinnen und Patienten zu nutzen.

Vision: „Facharztpraxis Truppenarztmedizin“

Die Angehörigen des SanVersZ Beelitz wurden über die letzten Jahre durch eine konsequent gelebte Vision – nämlich die Verwirklichung einer „Facharztpraxis Truppenarztmedizin“ – angetrieben. Dass eine solche auch über ein entsprechend zeitgemäßes Praxismanagement verfügen muss, wurde bereits im Jahre 2017 in einem kurzen Beitrag im Intranet dargestellt [3]. Wegen der profunden Anstrengungen, der Truppenarztmedizin einen neuen fachlichen Stellenwert zu geben, erhielten die „Beelitzer“ im Jahr 2018 die Gelegenheit, sich im Rahmen eines Pilotprojekts nach KTQ® zertifizieren zu lassen.

Die dreimonatige Abwesenheit eines Teils der Truppe vom Standort aufgrund der Teilnahme an der Übung „Trident Juncture“ gab Gelegenheit zur Nagelprobe „KTQ®-Zertifikat“, um die geleistete Arbeit mit der Zertifizierung zu krönen.

KTQ® für den „ersten Wurf“ gewählt

Die Auswahl des Zertifizierungsverfahrens war bereits im Vorfeld auf KTQ® gefallen, weil hier insbesondere bei der Erstzertifizierung auf einen Prozess des Bewusstmachens gesetzt wird. KTQ® stellt den Plan-Do-Check-Act-Zyklus (PDCA) klar in den Mittelpunkt des Denkens und legt im entsprechenden Zertifizierungskatalog den Schwerpunkt für ambulante Gesundheitseinrichtungen auf gelebte Teamprozesse – und weniger auf niedergeschriebene Regelungen und Verfahrensanweisungen. Bei der KTQ®-Zertifizierung war aber auch für alle an dem Prozess Beteiligten der manchmal schwierige „Blick in den Spiegel“ – und nicht nur auf den Monitor – nötig. Es war das Spektrum der gesamten tatsächlichen Zuständigkeiten einer Facharztpraxis professionell zu „beackern“, wofür KTQ® klar definierte 48 „Kriterien“ ausgibt.

Die Überreichung des drei Jahre gültigen Zertifikats stand am Ende des Zertifizierungsprozesses (von links: Flottenarzt Dr. Dirk Stölten, Leiter Sanitätsunterstützungszentrum Berlin, Oberfeldarzt Dr. Mario Jäger, Leiter Sanitätsversorgungszentrum Beelitz, und Ronald Neubauer, Geschäftsführer KTQ®-GmbH)

Jeder Arbeitsablauf (hier Ergometrieplatz) wurde von den KTQ®Visitoren im Hinblick auf die Einhaltung der Qualitätskriterien unter die Lupe genommen.

Allerdings hatte bei der Erstellung der Kriterien nie jemand an die Bundeswehr gedacht. Zu Beginn schienen deshalb die Verfahren nicht nur ungewohnt, sondern es kam dem einen oder anderen schier unüberschaubar vor. Es wirkte auf den ersten Blick sogar an manchen Stellen unpassend, weil in der „Truppenarztmedizin“ der Patient nicht nur als Patient, sondern als Soldatin bzw. Soldat im Mittelpunkt steht. Wenn die Zertifizierung über Beelitz hinaus ausgerollt werden soll, so wird auf der Basis der gesammelten Erfahrungen ein Ausschreibungsverfahren initiiert werden, das auch allen anderen geeigneten Anbietern offensteht, die sich den vorgegebenen Kriterien stellen wollen.

Beginn mit der „Unternehmensführung“

Die Zertifizierungsarbeit begann notwendigerweise mit der Kategorie „Unternehmensführung“ und bestand zuerst im dezidierten Herausarbeiten der heutigen Rolle der Truppenärztin bzw. des Truppenarztes sowohl in der unentgeltlichen truppenärztlichen Versorgung wie auch innerhalb der militärischen Organisation überhaupt. Rasch fiel hier auf, dass dieser als obligater „Primärarzt“ genau die Zügel in der Hand hält, um die das zivile Gesundheitssystem uns häufig beneidet.

Für das Projekt und das weitere Selbstverständnis wurde in Beelitz eine konkrete örtliche Führungsphilosophie erarbeitet und dann daran angelehnt jedes der verbliebenen 47 Kriterien intensiv beleuchtet, ausgedeutet und entsprechend auch innerhalb der eigenen Ablauforganisation – dem eigenen „Praxismanagement“ – klar gestellt.

Was für Manchen anfangs nach einem Desaster „roch“, wurde in den drei Monaten der hauptsächlichen Zertifizierungsarbeit umgedreht und zum Erkennen und ehrlichen Einsehen vorhandener eigener Stärken gebracht. Der entstandene Qualitätsbericht ist auf der KTQ®-Homepage für jeden zugänglich [4]. Was dort beschrieben ist, hat die KTQ®-Visitoren eben auch in der praktischen Überprüfung vor Ort überzeugt.

Die Zukunft

Wirkung des Pilotprojektes in Beelitz wird die deutliche Verbesserung modernen Prozessdenkens im Team vor Ort sein. Eine Vielzahl von Instrumenten ist entstanden, die es insbesondere auch der Führung erlauben, viel effektiver, klarer und zeitgemäßer einzugreifen. Alle beteiligten Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter haben durch die intensive Projekterfahrung den Wert ihres praktischen Denkens und der Erfahrung neu zu schätzen gelernt.

Sie haben aber auch gesehen, dass sie in der Nutzung moderner EDV-Mittel bzw. banaler „Bierdeckel-Statistiken“ besser werden müssen. Spürbar war, dass Weitergabe von Erfahrungen in der eingenommenen Struktur und Hierarchie untrennbar zu guter Menschenführung gehören. Am Ende wurde damit in dieser Regionalen Sanitätseinrichtung auch für Führungsfragen ein Meilenstein gesetzt. Über die Langzeiterfahrungen wird weiter zu berichten sein. Der Leiter des SanVersZ Beelitz ist an einem Gedankenaustausch Gleichgesinnter interessiert.

Literatur

1. Weitz M et al.: Ultraschall in der Truppenarztambulanz – Erfahrungsbericht und Impuls. Wehrmedizinische Monatsschrift 2016; 60, 239-241.
2. Jäger M et al.: Differenzialdiagnostisches Problemlösen im truppenärztlichen Umfeld – der Fall Zero am Beginn einer Welle? Wehrmedizinische Monatsschrift 2018; 62, 69-77.
3. Jäger M: Truppenarztambulanz: Praxismanagement neu entdecken. Nachrichtenarchiv 2017 <https://www.sanitaetsdienst-bundeswehr.de>.
4. KTQ®: Qualitätsbericht SanVersZ Beelitz 2018. https://www.ktq.de/fileadmin/Q_Berichte/KTQQB_1793.pdf.

Oberfeldarzt Dr. Mario Jäger
Sanitätsversorgungszentrum Beelitz
E-Mail: mariojaeger@bundeswehr.org

HOHE AUSZEICHNUNG FÜR „EHEMALIGEN“

Oberstarzt a. D. Prof. Dr. Heinz Maier mit Verdienstkreuz 1. Klasse des Verdienstordens der Bundesrepublik Deutschland ausgezeichnet

Es ist die höchste Anerkennung, die die Bundesrepublik Deutschland für Verdienste um das Gemeinwohl ausspricht: das Verdienstkreuz 1. Klasse des Verdienstordens der Bundesrepublik Deutschland. Diese Auszeichnung überreichte am 12. April 2019 auf Schloss Höchstädt Bayerns Bau- und Verkehrsminister Dr. Hans Reichhart an Oberstarzt a.D. Prof. Dr. Heinz Maier und würdigte damit dessen langjähriges Engagement für die Verbesserung der medizinischen Versorgung in Entwicklungsländern und Krisengebieten.

„Vor fast 15 Jahren ist auf Heinz Maiers Initiative die international tätige Hilfsorganisation ‚Support Ulm e.V.‘ gegründet worden, deren Vorsitzender er ist. Außerdem engagierte sich Heinz Maier für den Verein ‚Medcare for People in Eritrea e.V. ‘, der die medizinische Versorgung der dortigen Bevölkerung verbessert und Hilfe zur Selbsthilfe leistet. Bereits 2006 hat ihm Bundespräsident Horst Köhler hierfür das Bundesverdienstkreuz am Bande verliehen. Seitdem hat er sein ehrenamtliches Engagement nicht nur fortgeführt, sondern sogar ausgeweitet. Ich freue mich, dass ihm Bundespräsident Frank-Walter Steinmeier nun das Bundesverdienstkreuz Erster Klasse verliehen hat und gratuliere zu dieser außergewöhnlichen Ehrung sehr herzlich“, so der Staatsminister in seiner Laudatio.

Staatsminister Dr. Reichardt und Prof. Dr. Maier

Oberstarzt a. D. Prof. Dr. Maier leitete von 1994 bis 2015 die Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde des Bundeswehrkrankenhauses Ulm. Dabei wirkte er weit über „seine Klinik“ hinaus für den Sanitätsdienst der Bundeswehr. Als langjähriger Leiter der Konsiliargruppe „HNO“ im Sanitätsdienst setzte er entscheidende Impulse für die Verbesserung der Einsatzversorgung in seinem Fachgebiet und für die Rehabilitation hörgeschädigter Soldatinnen und Soldaten. Bei seinen Einsätzen bedrückte ihn die unzureichende bis fehlende medizinische Versorgung der Bevölkerung in den Einsatzgebieten – ein Eindruck, der ihm fortan keine Ruhe ließ.

Auf seine Initiative hin wurde deshalb im Jahre 2005 von Ulmer Bürgern ganz unterschiedlicher Berufsgruppen der Verein ‚Support Ulm e.V.‘ gegründet, der seitdem zahlreiche konkrete Projekte zur Verbesserung der medizinischen Versorgung in der Dritten Welt realisiert hat. Dabei werden klar umrissene konkrete Projekte nachvollziehbar durchgeführt, was eine effektive Kontrolle der Mittelverwendung sicherstellt. Das erste „Support“-Projekt wurde durch den damaligen Verteidigungsminister Peter Struck unterstützt. Der Bau des Versorgungsgebäudes am Krankenhaus Feyzabath wurde finanziert und in Zusammenarbeit mit CIMIC-Kräften der Bundeswehr durchgeführt. Beispielhaft seien der Neubau einer HNO-Klinik in Eritrea, die Bereitstellung von Rollstühlen für schwerkranke Menschen in Namibia, wo auch aktuell der Schwerpunkt der Arbeit von Support Ulm e. V liegt, oder medizinische Ausbildungshilfe für Moldawien genannt – die Palette der Unterstützungsleistungen ist riesig. Ein Besuch der Webseite „www.support-ulm.de“ belegt dieses.

„Der Menschlichkeit verpflichtet!“ – dieses Motto des Sanitätsdienstes der Bundeswehr wird von Oberstarzt a. D. Prof. Dr. Heinz Maier in eindrucksvoller Weise auch nach seinem Ausscheiden aus dem aktiven Dienst gelebt. Im Namen der Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter des Bundeswehrkrankenhauses Ulm und aller Angehörigen des Sanitätsdienstes der Bundeswehr gratuliere ich ihm zu dieser hohen Auszeichnung, die ihm jetzt verdientermaßen verliehen wurde.

Generalarzt Dr. Ralf Hoffmann
Bundeswehrkrankenhaus Ulm
Kommandeur und Ärztlicher Direktor

TEAMARBEIT UND INTERDISZIPLINARITÄT

© Bundeswehr/Astrid Köpke

Stroke Unit am Bundeswehrkrankenhaus Ulm zertifiziert

Am Bundeswehrkrankenhaus (BwKrhs) Ulm konnte die erste „Stroke Unit" des Sanitätsdienstes der Bundeswehr als lokale Schlaganfallstation der Klinik für Neurologie erfolgreich zertifiziert werden.

Der Kommandeur und Ärztliche Direktor des BwKrhs'es Ulm, Generalarzt Dr. Ralf Hoffmann, übergab am 6. Mai 2019 die durch die Zertifizierungsgesellschaft LGA InterCert GmbH der TÜV Rheinland Group ausgestellte Urkunde an Oberstarzt Dr. Jens Metrikat, den Klinischen Direktor der Klinik und Poliklinik für Neurologie am BwKrhs Ulm. Er dankte dem gesamten Team und allen Unterstützenden des Hauses. Dabei stellte er besonders die erbrachte Gemeinschaftsleistung heraus.

Formelle Grundlagen geschaffen

Seit vielen Jahren werden am BwKrhs Ulm Soldatinnen und Soldaten sowie zivile Patientinnen und Patienten mit Schlaganfall nach sogenannten „Stroke Unit Standards" versorgt. Die Klinik für Neurologie nimmt seit 2005 am Baden-Württembergischen Landesverfahren zur Qualitätssicherung des akuten Schlaganfalls teil, durch welches die Maßnahmen jährlich evaluiert werden. „Umso schöner ist es, endlich eine offiziell zertifizierte Schlaganfalleinheit mit 4 Monitorbetten, integriert in die neurologische Station, betreiben zu können", so Oberstarzt Dr. Metrikat stolz. Durch die Zertifizierung kann die Einheit nun in der Schlaganfallkonzeption des Landes Baden-Württemberg formell ausgewiesen und entsprechend der ministeriellen Vorgaben vom Rettungsdienst angefahren werden.

Dem aktuellen Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses (G-BA vom 19. April 2018) zu einem gestuften System von Notfallstrukturen folgend, werden damit auch wesentliche Kriterien der stationären Notfallversorgung der höchsten Stufe („Umfassende Notfallversorgung", Stufe 3) umfänglich erfüllt. Krankenhäuser der umfassenden Notfallversorgung müssen mindestens über fünf der sechs Kategorie A-Fachabteilungen (Neurologie, Neurochirurgie, Unfallchirurgie, Kardiologie, Gastroenterologie, Gynäkologie) verfügen. Sie müssen neben anderen Voraussetzungen auch 24 Stunden an 7 Tagen pro Woche Primärdiagnostik (inklusive Magnetresonanztomografie) und Initialtherapie (Thrombolyse, Thrombektomie) des Schlaganfalls ermöglichen.

Krankenkassen vergüten regelhaft nur erbrachte Leistungen **zertifizierter** Stroke Units. Dafür sind nun die Voraussetzungen geschaffen.

Teamarbeit und schnelles Handeln zählen

Eine „akute zentrale neurologische Symptomatik" ist ein häufiges Meldebild in der Notfallaufnahme. Oft steckt ein Schlaganfall dahinter. In der Gesamtbevölkerung tritt besonders der ischämische Schlaganfall häufig auf.

© Bundeswehr/André Thieringer

Das Team der Klinik für Neurologie unter der Leitung von Oberstarzt Dr. Metrikat (erste Reihe, zweiter von rechts) ist stolz über die Zertifizierung der Stroke Unit. Die Zertifizierungsurkunde war kurz zuvor von Generalarzt Dr. Hoffmann, Kommandeur und Ärztlicher Direktor des BwKrhs Ulm (links vorn) ausgehändigt worden.

Für den Sanitätsdienst der Bundeswehr ist der Schlaganfall eine beispielhafte „Modellerkrankung“: Es handelt sich um eine multidisziplinär zu behandelnde, komplexe Akuterkrankung, die vom Rettungsdienst, in der Notaufnahme, auf der Stroke Unit, ggf. auch auf der Intensivstation, über die neurologische Bettenstation bis hin zur stationären und ambulanten Rehabilitation versorgt wird. Es müssen Abläufe zwischen verschiedenen Disziplinen praktiziert werden, wie sie auch wehrmedizinisch relevant sind.

Je schneller gemeinsam gehandelt wird – und es zählt jede Minute – desto erfolgversprechender verläuft die Behandlung. Dies gilt insbesondere für die systemische Thrombolyse zur möglichst raschen Auflösung des ursächlichen Blutgerinnsels. Zunehmend bedeutsamer wird auch die mechanische Thrombektomie, welche die interventionellen Neuroradiologen am BwKrhs Ulm rund um die Uhr durchführen können, wenn sich innerhalb eines begrenzten Zeitfensters ein entsprechender Gefäßabbruch bildgebend darstellt. Bei Komplikationen, wie Einblutungen oder einem Hirnödem, können umgehend die Neurochirurgen des Hauses zur operativen Versorgung zum Einsatz kommen. Die Gefäßchirurgie am BwKrhs Ulm kann durch operative Maßnahmen an verengten Halsgefäßen (Karotisendarteriektomie) das Risiko für einen erneuten Schlaganfall reduzieren.

Internistische Expertise hilft, weitere Risikofaktoren – wie z. B. Diabetes, Bluthochdruck, Herzrhythmusstörungen – schnell zu erkennen und zu behandeln. Kardiopulmonal instabile Patientinnen und Patienten, die auf der Stroke Unit nicht mehr behandelbar sind, werden durch enge interdisziplinäre Zusammenarbeit auf der internistischen oder der anästhesiologischen Intensivstation versorgt.

Vom ersten Tag an nach einem Schlaganfallereignis spielt die Funktionstherapie durch Logopäden, Physio- und Ergotherapeuten eine wesentliche Rolle. Der Sozialdienst bahnt frühzeitig Schritte für eine weiterführende Behandlung und längerfristige Versorgung der meist rehabilitationsbedürftigen Patienten. Auch geriatrischen, schmerztherapeutischen und palliativmedizinischen Aspekten kann in der Klinik Rechnung getragen werden.

Wichtige Voraussetzungen an Bundeswehrkrankenhäusern

Dem BwKrhs Ulm werden exzellente infrastrukturelle Voraussetzungen für eine qualitativ hochwertige Schlaganfallmedizin im Zertifizierungsaudit attestiert. Alle Berufsgruppen und Fachdisziplinen, vergleichbar mit der überregionalen Versorgung in universitären Schlaganfallzentren, befinden sich im BwKrhs unter einem Dach und arbeiten eng und effektiv zusammen. Herausforderungen bleiben. Insbesondere müssen Personalfluktuationen im ärztlichen, pflegerischen und funktionstherapeutischen Bereich immer wieder gemeistert werden. Sie erschweren die Bedingungen zeitweise erheblich.

Unterstützt durch die Krankenhausführung, das Zentrale Klinische Management (ZKM) und alle beteiligten Kliniken und Abteilungen des Hauses wurde die zertifizierte Stroke Unit erfolgreich etabliert. Diese Etablierung ist ein wesentlicher Schritt in der Stärkung eines bedeutenden konservativen Faches in den BwKrhs´ern. Sie bietet beste Voraussetzungen für die adäquate Versorgung eines häufigen, schweren und vielgestaltigen Krankheitsbildes.

Bundewehrkrankenhaus Ulm
Presseoffizier
E-Mail: bwkrhsulmpresseoffizier@bundeswehr.org

ZUM 75. GEBURTSTAG

Generalarzt a.D. Dr. Volker Schwamborn

Generalarzt a.D. Dr. Volker Schwamborn konnte am 30. Juni 2019 in seiner heutigen Heimatstadt Diez, für die er seit Jahren lebt und sich – heute besonders für das Theaterspiel – engagiert, seinen 75. Geburtstag feiern. Er ist zahlreichen Angehörigen des Sanitätsdienstes nicht nur aus seiner Zeit als Kommandeur des Sanitätskommandos II (ab 2001) bekannt, sondern auch aus seinen Vorverwendungen als zupackender und zielstrebiger Sanitätsoffizier in Erinnerung.

© Zeiler-Photograpy, Waldbrunn

Geboren am 30. Juni 1944 in Waldbröl im Oberbergischen Kreis, absolvierte Volker Schwamborn nach seinem Realschulabschluss eine Lehre als Rundfunk- und Fernsehtechniker und startete danach eine Karriere bei der Deutschen Bundespost, wo er nach dem Erwerb des Seefunkzeugnisses II. Klasse 1964 als Funkoffizier bei der Handelsmarine anheuerte – ein heute nicht mehr denkbarer Werdegang. Doch er wollte mehr und holte auf der Abendschule das Abitur nach.

Am 16. Oktober 1972 trat er als Sanitätsoffizieranwärter in die Bundeswehr ein. Dem Medizinstudium in Düsseldorf folgte ab 1978 seine klinische Weiterbildung im Bundeswehrkrankenhaus Bad Zwischenahn. Weitere Stationen seiner Laufbahn waren das Sanitätszentrum 215 in Munster, das Sanitätsregiment 72/Wehrbereichskommando II in Hannover, das Sanitätsbataillon 11 in Leer und die 11. Panzergrenadierdivision in Oldenburg, wo er als Divisionsarzt zum Oberstarzt befördert wurde. Als Kommandeur der Sanitätsbrigade 1 in Leer/Ostfriesland begleitete er 1994 als LSO den deutschen Unterstützungsverband in SOMALIA – hierfür wurde er mit der UN-Medaille ausgezeichnet. Während seiner folgenden Verwendung als Korpsarzt in Ulm wurde ihm das Ehrenkreuz der Bundeswehr in Gold verliehen.

Seiner Tätigkeit als Kommandoarzt im Heeresführungskommando in Koblenz (Oktober 1997 bis Juni 2001) und einem kurzen „Gastspiel“ im Sanitätsführungskommando in Bonn folgte für ihn ab Oktober 2001 seine „Königsverwendung“ – er wurde Kommandeur des Sanitätskommandos II und dort am 1. Februar 2002 zum Generalarzt befördert. Es galt, den Stab dieser neuen Kommandobehörde aufzustellen, die Führung über die Bundeswehrkrankenhäuser Koblenz und Hamm, drei Leitsanitätszentren und zwei Sanitätsregimenter sowie die nicht aktiven Truppenteile im Kommandobereich zu übernehmen. Die ebenfalls von Dr. Schwamborn eingeführte zentrale Beförderung von Sanitätsoffizieranwärtern und -anwärterinnen zum Leutnant vor der prächtigen Kulisse des Schlosses Oranienstein ist heute noch ein Jahres-Highlight in Diez. Für seinen Einsatz zur Gründung der bis heute bestehenden Partnerschaft mit dem U.S. Army Europe Regional Medical Command erhielt er 2005 den „Legion of Merit“ der USA.

Dr. Volker Schwamborn wurde nach höchst erfolgreichem Wirken im Juni 2005 in den Ruhestand versetzt. Der Sanitätsdienst der Bundeswehr wünscht Herrn Generalarzt a. D. Dr. Schwamborn, dem ersten sanitätsdienstlichen Schlossherrn zu Diez, zu seinem 75. Geburtstag alles erdenklich Gute. Bleiben Sie gesund, bleiben Sie für den Sanitätsdienst und unsere schöne Stadt Diez aktiv und sichtbar – nicht nur auf der Theaterbühne!

Dr. Armin Kalinowski
Generalstabsarzt und Kommandeur
Kommando Regionale Sanitätsdienstliche Unterstützung

ZUM 70. GEBURTSTAG

Admiralstabsarzt a.D. Dr. Christoph Büttner

Wer sich mit der weitgespannten Karriere von Admiralstabsarzt a.D. Dr. Christoph Büttner beschäftigt, findet bei allem Wechsel in seinen Tätigkeitsfeldern und Positionen eine Konstante: Christoph Büttner war mit Leib und Seele immer gleichermaßen Offizier und Arzt und verstand den Sanitätsdienst stets in der Gesamtheit aller Approbationen und aller Berufsgruppen.

Am 14. Juni 2019 vollendete der in Melle, Niedersachsen, geborene Sanitätsoffizier sein 70. Lebensjahr. Und wer ihn im Dienst selbst erleben durfte, bekam einen Eindruck von seinem Humor, seinem Selbstverständnis und seinem Bestreben, gemeinsam im Team nach Lösungen zu suchen, getreu seinem Leitspruch: „Mit Nick Augusten geht die Welt zugrunde!“.

Seine Laufbahn begann er nach dem Abitur 1968 als Truppenoffizier in der Marine. Es folgte 1972 zunächst ein Jura-Studium, dann rasch der Wechsel an die Medizinische Fakultät der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz und 1974 als Oberleutnant zur See die Wiedereinstellung als Sanitätsoffizieranwärter.

Christoph Büttners Weg als Sanitätsoffizier ist ein Paradebeispiel für Verwendungsbreite: Fliegerarzt und Staffelchef beim Marinefliegergeschwader 5 in Kiel, Beratender Arzt der Abteilung Personal und Personalführer, Referatsleiter InSan II 5 – Infrastruktur – und Abteilungsleiter IV im Personalamt der Bundeswehr. Als Admiralarzt der Marine kehrte er im Jahre 2001 zu seinen militärischen Wurzeln zurück und wirkte ab 2006 für 2 Jahre in Diez als Kommandeur des Sanitätskommandos II, bevor er 2008 – zum Admiralstabsarzt befördert – Stellvertreter des Inspekteurs des Sanitätsdienstes der Bundeswehr wurde.

Alle Verwendungen waren für Christoph Büttner mit neuen, teilweise besonderen, Herausforderungen verbunden. Die Übernahme von Sanitätsoffizieren der ehemaligen NVA in die Bundeswehr und die stärkere operative Ausrichtung des Marinesanitätsdienstes sind nur zwei Beispiele hierfür. Der Sanitätsdienst der Bundeswehr verdankt Admiralstabsarzt a.D. Dr. Büttner die Grundlagen zur Neuausrichtung des Sanitätsdienstes 2010 und vor allem ein zukunftsweisendes Instrumentarium zur Steigerung der Attraktivität der Laufbahn der Sanitätsoffiziere und damit zur nachhaltigen Bindung des Personals an den Sanitätsdienst der Bundeswehr.

Nach seiner Zurruhesetzung im Jahr 2011 blieb er mehr als 5 Jahre lang weiter aktiv, unter anderem als Chef-

(© PIZ SanDstBw)

redakteur der Medical Corps International Forum (MCIF) und als fachlicher Leiter der in die MEDICA integrierten Tagung für Disaster and Military Medicine (DiMiMed).

Bei seiner Gabe zu kommunizieren, zu überzeugen, zu erklären oder auszugleichen konnte man bei Christoph Büttner immer spüren, dass er Respekt hatte vor der Aufgabe und vor den Menschen. Er forderte von allen kreative Kritik, Mitdenken und offenen und kameradschaftlichen Umgang nach dem Motto: “Ein Schiff lässt sich durch den Kapitän auf der Brücke steuern, gefahren wird es aber von der Crew!“

Der Sanitätsdienst der Bundeswehr gratuliert Admiralstabsarzt a.D. Dr. Büttner ganz herzlich zu diesem runden Geburtstag und wünscht ihm für die Zukunft alles erdenklich Gute.

Dr. Stephan Schoeps, Generalstabsarzt
Kommando Sanitätsdienst der Bundeswehr
Stellvertreter des Inspekteurs des Sanitätsdienstes und Kommandeur Gesundheitseinrichtungen

WISSENSCHAFTLICHE AUSZEICHNUNGEN

Oberfeldarzt Priv.-Doz. Dr. Timo Wille erhielt zwei renommierte wissenschaftliche Preise

Gleich zwei renommierte Preise konnte Oberfeldarzt Priv.-Doz. Dr. Timo Wille vom Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr in München entgegennehmen. Auf nationaler und internationaler Ebene wurde er für seine innovativen Arbeiten zur Therapie von Vergiftungen durch Nervenkampfstoffe geehrt. Beide Auszeichnungen unterstreichen den wissenschaftlichen Wert wehrmedizinischer Forschung auf universitärem Niveau und ihren besonderen Anwendungsbezug.

© InstPharmToxBw

Bei der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie e. V. (DGPT) im Februar 2019 in Stuttgart erhielt Priv.-Doz. Dr. Wille zunächst der „Young Scientist Toxicology Award". Mit diesem wichtigsten Nachwuchspreis wurden seine umfangreichen und hochwertigen wissenschaftlichen enzymologischen Arbeiten zu Reaktivatoren nervenkampfstoffgehemmter Acetylcholinesterase und seine innovativen Arbeiten zu scavengerbasierten Therapieansätzen gewürdigt. Die Untersuchungen erfolgten zum Teil in Kooperation mit namhaften internationalen Institutionen, wie der Mayo Clinic in Rochester, USA, der Universität Rouen in Frankreich, der TU Kaiserslautern, dem FOI in Umea, Schweden, dem Weizmann Institut in Rehovot, Israel, und dem CSIRO in Melbourne, Australien.

Der Einsatz von Sarin im syrischen Bürgerkrieg in den Jahren 2013 und 2017 sowie die Verwendung von Nervenkampfstoffen als Mordwaffe gegen Einzelpersonen im Jahre 2017 in Malaysia und 2018 in Großbritannien verdeutlichen, wie wichtig wirksame therapeutische Ansätze zur Behandlung dieser schwerwiegenden Vergiftungen sind. Während Reaktivatoren erst nach Hemmung der Acetylcholinesterase wirksam sind, besitzen scavengerbasierte Therapieansätze den Vorteil, dass sie pharmakologisch deutlich früher angreifen können. Scavenger inaktivieren Nervenkampfstoffe im Blut und verhindern die Verteilung in die neuronalen Zielgewebe. Die Funktion der Acetylcholinesterase wird dadurch geschützt.

Kurz nach der Veranstaltung der DGPT wurde Priv.-Doz. Dr. Wille im März 2019 auf der Jahrestagung der Society of Toxicology, der weltweit größten toxikologischen Fachgesellschaft, in Baltimore der „Postdoctoral Fellows Travel Award" der Clinical and Translational Toxicology Specialty Section verliehen. Der prämierte Beitrag stellte die in seiner Arbeitsgruppe entwickelten *In-vitro*- und *Ex-vivo*-Modelle zur Untersuchung der Toxizität von Nervenkampfstoffen und Wirksamkeit von experimentellen und etablierten Antidoten vor. Zu diesen gehören z. B. ein Dünndarmmodell, Präzisionsschnitte der Lunge, das Langendorff-Herz und ein Zellkulturmodell aus humanen Herzmuskelzellen. Alle Modelle entsprechen dem 3R-Konzept (replace – reduce – refine) zur Vermeidung, Verringerung und Verbesserung von Tierversuchen. Die Deutsche Forschungsgesellschaft fördert im Rahmen des Graduiertenkollegs 2338 „Targets in Toxicology" ein von Priv.-Doz. Dr. Wille geleitetes Projekt, in welchem Entzündungsreaktionen an Lungenpräzisionsschnitten nach Vergiftung mit Hemmstoffen der Acetylcholinesterase untersucht werden.

Die Angehörigen des Instituts für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr gratulieren Oberfeldarzt Priv.-Doz. Dr. Wille von Herzen zu den errungenen Auszeichnungen, mit denen wichtige Schritte zur besseren Behandlung sonst tödlicher Nevenkampfstoffvergiftungen internationale Anerkennung fanden.

Oberstarzt Prof. Dr. Horst Thiermann
Leiter des Instituts für Pharmakologie
und Toxikologie der Bundeswehr
E-Mail: horstthiermann@bundeswehr.org

Rainer Schubmann, Silke Eckelt et al.

Psycho-Kardiologie kompakt

Erstausgabe 2018, 232 Seiten,
20 Abbildungen, Softcover, 17x11 cm

Spitta GmbH, Balingen,

ISBN: 978-3-946761-72-3 (14,80 €)

Die Autoren von „Psycho-Kardiologie KOMPAKT – verständlich auf den Punkt gebracht“ sind Ärzte und Psychologen mit viel Erfahrung in der Kardiologie und Psychosomatik, die den Zusammenhang zwischen kardiologischen Erkrankungen und psychischen Faktoren erläutern. Auch wenn sich das Buch eigentlich an Patienten richtet, enthält es in komprimierter und gut lesbarer Form reichlich Wissenswertes für deren behandelnde Ärzte.

Nach für den Laien gedachter Darstellung von Grundlagen zum Herz-Kreislauf-System steigen die Autoren rasch in die Thematik ein und erläutern das Stress-System und dessen Auswirkungen sowie die Zusammenhänge zwischen Herz-Kreislaufsystem einerseits und Angst, Depression und Anpassungsstörungen andererseits. Es folgen kurze Kapitel zu Herzchirurgie, arterieller Hypertonie, Herzrhythmusstörungen und ICD-Implantation, bevor es mit einem Überblick über ambulante und stationäre Therapiemöglichkeiten sowie spezielle Therapieprogramme abschließt. Immer wieder werden dabei kurze Fallbeispiele anschaulich berichtet und kommentiert.

Für Internisten, Allgemeinmediziner und die truppenärztliche Sprechstunde besonders interessant sind die vielen aufgezeigten Verbindungen zwischen Psyche und kardiologischen Erkrankungen. Alle denkbaren Möglichkeiten werden anschaulich dargestellt und diskutiert: psychische und körperliche Erkrankung unabhängig nebeneinander, psychische Symptomatik als Folge einer somatischen Herz-Kreislauferkrankung, organische Symptome als Folge einer psychischen Alteration, wie auch die wechselseitige Beeinflussung von Psyche und Körper. Im Kapitel über Angst wurden dabei – zum besseren Verständnis für den Patienten – auch körperliche Symptome von Panikattacken oder der „Teufelskreis der Angst“ grafisch aufbereitet.

Im Kapitel über implantierbare Aggregate werden Antworten auf mögliche Fragen (z. B. „Wie erleben Patienten vor und nach einer ICD-Implantation die Beziehung zum Arzt?“, „Auf welche psychischen Beschwerden sollte der Arzt nach einer ICD-Implantation achten?“ oder „Wie kann die Familie des Patienten gut einbezogen und beraten werden?“) gegeben.

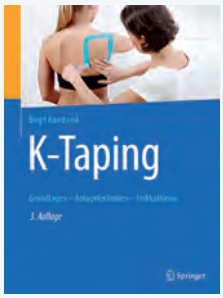
Bei der Erläuterung der Möglichkeiten einer psychotherapeutischen Behandlung werden die verschiedenen Therapierichtungen kurz vorgestellt, exemplarisch kurze Fallgeschichten beschrieben, praktische Hinweise zur Therapeutensuche gegeben sowie spezielle Therapieverfahren (Stressbewältigungstraining, Biofeedback, Sporttherapie und Komplementärmedizin Maßnahmen) angerissen.

Fazit: „Psycho-Kardiologie KOMPAKT“ kann mit wenig Leseaufwand in zahlreichen kurzen Kapiteln viel Wissenswertes über Zusammenhänge zwischen kardiologischen Erkrankungen und Psyche vermitteln – somit eine klare Leseempfehlung für Truppenärztinnen/Truppenärzte und andere, die Patienten mit kardiologischen Erkrankungen haben.

Oberstabsarzt Dr. Beate Eisenführ
Bundeswehrkrankenhaus Hamburg
E-Mail: beateeisenfuehr@bundeswehr.org

Birgit Kumbrink

K-Taping



3. Auflage 2018, Springer-Verlag Heidelberg
10 Kapitel, 278 Seiten, 532 Abb.
ISBN Softcover: 978-3-662-57349 (49,99 €)
ISBN eBook: 978-3-662-57350-1 (39,99 €)

Kinesio-Taping findet im Sportbereich, bei Prävention und Rehabilitation genauso erfolgreich Anwendung wie in medizinischen Behandlungs- und Nachsorgekonzepten, z.B. in der Orthopädie, Chirurgie und Neurologie. Das im Jahre 2011 erschienene Buch „K-Taping“ von Birgit Kumbrink hat sich dabei zu einem Standardwerk entwickelt.

Nach Aufnahme der Themen Neurologie und Gynäkologie in der 2. Auflage erweitert die Autorin die neue Auflage ihres Buches um die Technik des Cross-Tapings. Auch wird erstmals dargestellt, wie falsche und zu Hautverletzungen führende Anlagetechniken vermieden werden können. Damit ist diese 3. Auflage ein komplettes Nachschlagewerk für alle relevanten Themen des Kinesio-Tapings.

Nach Einführung in die K-Taping-Methode, in der auch eine Übersicht über Anwendungsgebiete, Material sowie die Grundidee des Tapens gegeben wird, werden die vier Anlagetechniken (Muskel-, Ligament-, Korrektur- und Lymphanlagen) in jeweils eigenen Kapiteln umfassend beschrieben. Birgit Kumbrink erklärt ausführlich und gut bebildert alle Facetten des K-Tapings. Oft sind den Kapiteln kurze physiologische und anatomische Einleitungen vorgeschaltet. Speziell das Kapitel Indikationsanlagen hat einen hohen therapeutischen Wert. Die Anlagetechniken sind diagnosebezogen, gut erklärt und bildlich dargestellt. Sie werden, nach meiner eigenen langjährigen Erfahrung mit dieser Technik, von den Patientinnen und Patienten gut angenommen und unterstützen die physiotherapeutische Behandlung im täglichen Betrieb.

Man merkt dem Buch an, dass die Autorin zu den erfahrenen Anwendern und Lehrern dieser Behandlungsmethode gehört. Aus meiner Sicht ist es allerdings schade, dass sie ihre eigene Tape-Marke einschließlich Schere und Reinigungsgel bewirbt. Das passt nicht so recht in dieses sonst so hochwertige Nachschlagewerk.

Fazit: Birgit Kumbrink‘s neues Buch ist praxisnah und fundiert. Die vorgestellten Techniken sind erprobt und funktionell. Zwar ersetzt es keinen fundierten praktischen Kurs, eignet sich jedoch für bereits ausgebildete Therapeutinnen und Therapeuten, seltene Techniken wieder in Erinnerung zu rufen und neue zu erproben und somit die tägliche Arbeit zu unterstützen – ein hervorragendes Begleitbuch für die tägliche Arbeit.

Michael Althoff, Physiotherapeut
Zentrum für Sportmedizin der Bundeswehr, Warendorf
E-Mail: michael1althoff@bundeswehr.org

Geburtstage August 2019

Wir gratulieren zum 80. Geburtstag und älter:

Dr. med. Volker Grabarek
Generalstabsarzt a. D.
Triftstraße 6
80538 München — 06.08.1937

Dr. med. dent. Frank Kahlbrandt
Oberstarzt a. D.
Mühlenstraße 29
25879 Süderstapel — 07.08.1937

Dr. med. Helmut Potzler
Oberstarzt d. R.
Albert-Schweitzer-Straße 52
91710 Gunzenhausen — 13.08.1937

Dr. med. Rolf Toussaint
Farnweg 7
50226 Frechen — 14.08.1926

Dr. med. Erik F. Windisch
Oberfeldarzt d. R.
Glöckstraße 5
74538 Rosengarten — 15.08.1935

Dr. med. Klaus W. Schairer
Oberstarzt a. D.
Ackerlänge 16
91086 Aurachtal — 18.08.1934

Dr. med. Ulrich Grohmann
Oberstabsarzt d. R.
Paracelsusstraße 18B
38116 Braunschweig — 19.08.1937

Volker Krommes
Oberfeldapotheker a. D.
Auf der Höhe 2A
35041 Marburg-Michelbach — 19.08.1937

Dr. med. Franz-Otto Rumphorst
Oberfeldarzt d. R.
Welper Straße 6
49377 Vechta — 31.08.1935

Wir gratulieren zum 75. Geburtstag:

Dr. med. dent. Caspar Müllensiefen
Flottillenarzt d. R.
Haydnstraße 25
76307 Karlsbad — 05.08.1944

Karl-Egbert Houy
Oberstarzt d. R.
Hauptstraße 31
66578 Schiffweiler — 10.08.1944

Dr. med. Georg Gellhaar
Oberstarzt d. R.
Auf der Hannighorst 8
32139 Spenge — 12.08.1944

Joachim Stech
Oberstapotheker a. D.
Sonnenhang 37
53809 Ruppichteroth — 15.08.1944

Wir gratulieren zum 70. Geburtstag:

Dipl.-Psych. Matthias Freidel
Oberleutnant d. R.
Anne-Frank-Weg 1
24568 Kaltenkirchen — 11.08.1949

Dr. med. Peter Klump
Oberstarzt a. D.
Küttiger Straße 25
56295 Rüber — 25.08.1949

Die Veröffentlichung erfolgt ausschließlich aufgrund vorliegender Einverständniserklärung gemäß der EU-Datenschutz-Grundverordnung (DSGVO) vom 25. Mai 2018.

Wehrmedizinische Monatsschrift – Impressum **(ISSN 0043 - 2156)**

Redaktion: Oberstarzt a. D. Dr. med. Peter Mees, Baumweg 14, 53819 Neunkirchen-Seelscheid, Telefon: +49 2247 912057, E-Mail: wmm@p-mees.de

Herausgeber: Kommando Sanitätsdienst der Bundeswehr, Presse- und Informationszentrum des Sanitätsdienstes der Bundeswehr im Auftrag des Inspekteurs/der Inspekteurin des Sanitätsdienstes der Bundeswehr, Von-Kuhl-Straße 50, 56070 Koblenz, Telefon: +49 261 896 13210, E-Mail: pizsanitaetsdienst@bundeswehr.org

Wissenschaftliche Beratung: Die Begutachtung von Original- und Übersichtsarbeiten sowie Kasuistiken im Rahmen des Peer-Review-Verfahrens erfolgt durch in dem Fachgebiet des jeweiligen Beitrags wissenschaftlich ausgewiesene Expertinnen und/oder Experten, die – dem Einzelfall entsprechend – in Abstimmung zwischen Redaktion und Herausgeber ausgewählt und beauftragt werden.

Verlag: Beta Verlag & Marketinggesellschaft mbH, Celsiusstraße 43, 53125 Bonn, Telefon +49 228 91937 10, Telefax +49 228 91937 23, E-Mail: info@beta-publishing.com; Geschäftsleitung: Heike Lange; Objektleitung: Peter Geschwill; Produktionsleitung: Thorsten Menzel. Druckvorstufe: PIC Crossmedia GmbH, Langenfeld. Druck: Bundesamt für Infrastruktur, Umweltschutz und Dienstleistungen der Bundeswehr (BAIUDBw), Zentraldruckerei Köln/Bonn. Rechtliche Hinweise: Die Zeitschrift und alle in ihr enthaltenen Beiträge und Abbildungen sind urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung außerhalb der engen Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist ohne Zustimmung des Herausgebers unzulässig und strafbar. Dieses gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

Internet: Autorenhinweise sind unter www.sanitaetsdienst-bundeswehr.de und www.wehrmed.de abrufbar. Die Zeitschrift steht auch als PDF-Datei unter www. sanitaetsdienst-bundeswehr.de zur Verfügung.

Alle namentlich gezeichneten Beiträge – soweit sie nicht ausdrücklich mit einem * gekennzeichnet sind – geben die persönlichen Ansichten der Verfasserin, des Verfassers oder der Verfasser wieder. Sie entsprechen nicht unbedingt den Auffassungen der Redaktion oder des Herausgebers. Manuskriptsendungen an die Redaktion erbeten. Erscheinungsweise mindestens acht mal im Jahr. Die aktuellen Bezugspreise sind zu finden unter: www.beta-publishing.com/publikationen. Für Mitglieder der Deutschen Gesellschaft für Wehrmedizin und Wehrpharmazie e. V. ist der Bezug der Zeitschrift im Mitgliedsbeitrag enthalten. Sanitätsoffiziere der Bundeswehr, die Mitglieder der Deutschen Gesellschaft für Wehrmedizin und Wehrpharmazie e. V. sind, erhalten die „Wehrmedizinische Monatsschrift“ über ihre Dienststellen.

Deutsche Gesellschaft für Wehrmedizin und Wehrpharmazie e. V., Bereichsgruppe OST

50. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Wehrmedizin & Wehrpharmazie e. V.

10. - 12. Oktober 2019

KONGRESSHALLE am Zoo Leipzig

Die Zivil-Militärische Zusammenarbeit im Sanitätsdienst der Bundeswehr

Voneinander lernen Miteinander gestalten

TAGUNGSPRÄSIDENT
Generalarzt Dr. Andreas Hölscher

WISSENSCHAFTLICHE LEITUNG
Admiralarzt Dr. Knut Reuter
Oberstarzt d. R. Dr. Jörg Hammer

Anmeldung wissenschaftlicher Vorträge und Poster bis zum 30. Juni 2019:

Jahreskongress2019@dgwmp.de
Tel.: 03443 331701

Weitere Informationen / Anmeldung zum Kongress: **www.dgwmp.de**

WIR. DIENEN. DEUTSCHLAND.

IMPRESSUM

Herausgeber:
Inspekteur des Sanitätsdienstes der Bundeswehr

Kontakt:
Kommando Sanitätsdienst der Bundeswehr
Presse- und Informationszentrum
Von-Kuhl-Straße 50
56070 Koblenz

E-Mail:
PIZSanitaetsdienst@Bundeswehr.org

Verlag:
Beta Verlag & Marketing-gesellschaft mbH
Celsiusstraße 43
53125 Bonn

Druck:
Zentraldruckerei BAIUDBw, Bonn

Diese Publikation des Sanitätsdienstes der Bundeswehr wird kostenlos abgegeben und ist nicht zum Verkauf bestimmt.

BUNDESWEHR