

**Aus der Klinik für Plastische Chirurgie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. Peter Mailänder**

**Quantifizierung der kutanen Mikrozirkulation auf Wunden
mittels Laser- Doppler- und Weißlichtspektrometrie nach
Anwendung von kaltem atmosphärischem Plasma**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Sektion Medizin -

vorgelegt von
Lysann Schulz
aus Perleberg

Lübeck 2020

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Tobias Kisch
2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Christian Rose

Tag der mündlichen Prüfung 13.11.2020

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 13.11.2020
- Promotionskommission der Sektion Medizin -

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	V
1 Einleitung	6
1.1 Allgemeines	6
1.2 Wunden und Wundheilung	8
1.2.1 Wundheilungsstörungen - Ursachen chronischer Wunden	9
1.2.2 Verbrennungen und Verbrennungswunden	11
1.3 Kutane Mikrozirkulation	14
1.4 Kaltes atmosphärisches Plasma	16
1.5 Fragestellungen	18
2 Material und Methoden	19
2.1 Studiendesign und -rahmen	19
2.2 Studienteilnehmer	19
2.2.1 Einschlusskriterien	19
2.2.2 Ausschlusskriterien	20
2.2.3 Dokumentation	20
2.3 Anwendungsmethode – Direktes kaltes atmosphärisches Plasma	21
2.4 Mikrozirkulationsmessung	22
2.4.1 Messprinzip Weißlichtspektrometrie	23
2.4.2 Messprinzip Laser- Doppler- Spektroskopie	23
2.4.3 Messwerte- und Messzeitpunkte	24
2.5 Studienablauf	24
2.5.1 Einmalige lokale Anwendung mit CAP auf akuten Wunden	24
2.5.2 Repetitive lokale Anwendung mit CAP auf akuten Wunden	25
2.5.3 Einmalige und repetitive lokale Anwendung mit CAP auf chronischen Wunden	25
2.6 Statistische Analyse	26
3 Ergebnisse	27
3.1 Patientenkollektiv	28
3.2 Einmalige lokale CAP- Therapie auf spontanheilenden Wunden	29
3.2.1 Ergebnisse der Mikrozirkulationsmessung	30
3.2.2 Mikrobiologische Ergebnisse	32
3.3 Repetitive lokale CAP- Therapie auf spontanheilenden Wunden	33

3.3.1	Ergebnisse der Mikrozirkulationsmessung.....	34
3.3.2	Mikrobiologische Ergebnisse.....	38
3.4	Einmalige lokale CAP-Therapie auf IIa°-Verbrennungswunden	40
3.4.1	Ergebnisse der Mikrozirkulationsmessung.....	40
3.4.2	Mikrobiologische Ergebnisse.....	44
3.5	Einmalige lokale CAP- Therapie auf chronischen Wunden	44
3.5.1	Ergebnisse der Mikrozirkulationsmessung.....	45
3.5.2	Mikrobiologische Ergebnisse.....	48
3.6	Repetitive lokale CAP- Therapie auf chronischen Wunden	49
3.6.1	Ergebnisse der Mikrozirkulationsmessung.....	50
4	Diskussion	55
4.1	Klinische Wirkungen von kaltem atmosphärischem Plasma.....	55
4.1.1	Einfluss von CAP auf die Mikrozirkulation.....	55
4.1.2	CAP - Einfluss auf Keimbesiedlung	59
4.1.3	CAP und Wundheilung	60
4.1.4	CAP als sichere Behandlungsmethode?	63
4.2	Methodik - Mikrozirkulationsmessung	65
4.3	Limitationen	66
4.4	Fazit und klinischer Ausblick	67
5	Zusammenfassung	70
6	Literaturverzeichnis	72
7	Anhänge	80
8	Danksagung	84
9	Lebenslauf	85
10	Veröffentlichung der Arbeitsergebnisse	86

Abkürzungsverzeichnis

A	Arteria
ABI	Ankle brachial index
ASS	Acetylsalicylsäure
AU	Arbitrary units
AVK	arterielle Verschlusskrankheit
bFGF	basic fibroblast growth factor
CAP	Cold Atmospheric Plasma
CVI	Chronische venöse Insuffizienz
DFS	Diabetisches Fußsyndrom
DBD	dielectric barrier discharge
Di_CAP	direktes kaltes atmosphärisches Plasma
EGF	epidermal growth factor
HbA1c	Glycohämoglobin
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
IGF	insulin-like growth factor
KHK	Koronare Herzkrankheit
L	Liter
m	männlich
m ²	Quadratmeter
MDNS	Michigan Diabetes Neuropathy Score
Min	Minuten
mm	millimeter
µm	micrometer
nm	nanometer
NO	Nitric Oxide
Nrf2	nuclear factor erythroid 2-related factor
O ₂ C	Oxygen to see
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PDGF	platelet-derived growth factor
py	Packyears
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RNS	Reaktive Stickstoffspezies
SIRS	Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom
Stx	Spalthautentnahmestelle
TGF-β	transforming growth factor beta
TNF-α	tumor necrosis factor alpha
VEGF	vascular endothelial growth factor
w	weiblich

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 - Chronische Wunden	11
Abbildung 2 - Mischbild von Verbrennungswunden	12
Abbildung 3 - Aufnahme beim Verbandswechsel mit ausgeprägten Verbrennungen	13
Abbildung 4 - Histologische Einteilung der Verbrennung nach Jackson	13
Abbildung 5 - Schema der Epidermis, Dermis und Subkutis mit Gefäßplexus	15
Abbildung 6 - Darstellung der biologisch wirksamen Komponenten von CAP	17
Abbildung 7 - PlasmaDerm®FLEX9060 - Gerät	21
Abbildung 8 - O2C- Gerät der Firma LEA Medizintechnik	22
Abbildung 9 - O2C-Sonde einer IIa°-Verbrennungswunde sowie die Applikation von CAP	25
Abbildung 10 - Darstellung der Sauerstoffsättigung vor und nach einmaliger CAP-Anwendung bei Spalthautentnahmestellen in 2-4mm Gewebstiefe	31
Abbildung 11 - Darstellung des kapillären Blutflusses vor und nach einmaliger CAP-Anwendung bei Spalthautentnahmestellen in 2-4mm Gewebstiefe	32
Abbildung 12 - Anzahl der spontanheilenden Wunden mit besiedelten Keimen vor und nach CAP-Anwendung	32
Abbildung 13 - Darstellung der Sauerstoffsättigung bei Spalthautentnahmestellen in 2-4mm Gewebstiefe bei repetitiver CAP- Anwendung	37
Abbildung 14 - Darstellung des postkapillären venösen Füllungsdrucks bei Spalthautentnahmestellen in 2-4mm Gewebstiefe bei repetitiver CAP- Anwendung	37
Abbildung 15 - Darstellung des postkapillären venösen Füllungsdrucks bei Spalthautentnahmestellen in 6-8mm Gewebstiefe bei repetitiver CAP- Anwendung	38
Abbildung 16 - Anzahl der spontanheilenden Wunden mit besiedelten Keimen bei repetitiver CAP-Anwendung	39
Abbildung 17 - Darstellung der Sauerstoffsättigung vor und nach einmaliger CAP-Anwendung bei IIa°-Verbrennungswunden in 2-4mm Gewebstiefe von	42
Abbildung 18 - Darstellung des postkapillären venösen Füllungsdrucks vor und nach einmaliger CAP-Anwendung bei IIa°-Verbrennungswunden in 2-4mm Gewebstiefe	43
Abbildung 19 - Darstellung des kapillären Blutflusses bei IIa°-Verbrennungswunden vor und nach einmaliger CAP-Anwendung in 2-4mm Gewebstiefe bei einmaliger CAP- Anwendung	43
Abbildung 20 - Darstellung der Sauerstoffsättigung bei chronischen Wunden in 2-4mm Gewebstiefe bei einmaliger CAP- Anwendung	47
Abbildung 21 - Darstellung des kapillären Blutflusses bei chronischen Wunden in 6-8mm Gewebstiefe bei einmalige CAP- Anwendung	47
Abbildung 22 - Anzahl besiedelter chronischer Wunden mit Keimspektrum	48
Abbildung 23 - Darstellung der Sauerstoffsättigung bei chronischen Wunden in 2-4mm Gewebstiefe bei repetitiver CAP- Anwendung	53
Abbildung 24 - Darstellung des kapillären Blutflusses bei chronischen Wunden in 2-4mm Gewebstiefe bei repetitiver CAP- Anwendung	53
Abbildung 25 - Darstellung des kapillären Blutflusses bei chronischen Wunden in einer Gewebetiefe von 6-8mm nach repetitiver CAP- Anwendung	54
Abbildung 26 - Wundklassifikation des Diabetischen Fußsyndroms nach Wagner	80
Abbildung 27 - Diabetischer Neuropathiescore (MDNS)	80

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 - Klassifikation der pAVK nach Fontaine und Rutherford	10
Tabelle 2 - Interpretation des vermessenen Ankle-brachial-Indexes	10
Tabelle 3 - Übersicht des gesamten Patientenkollektivs	28
Tabelle 4 - Erkrankungen, Vorerkrankungen und Medikation des Kollektivs mit Spalthautentnahmestellen als spontanheilende Wunden bei CAP- Anwendung	29
Tabelle 5 - Verteilung der Keimspektren von spontanheilenden Wunden sowie deren Gramfärbung und Verteilungen vor/ nach CAP	33
Tabelle 6 - Erkrankungen, Vorerkrankungen und Medikation des Kollektivs mit Spalthautentnahmestellen als spontanheilende Wunden bei repetitiver CAP-Anwendung	34
Tabelle 7 - Verteilung der Keimspektren von spontanheilenden Wunden sowie deren Gramfärbung und Verteilungen vor/ nach repetitivem CAP	39
Tabelle 8 - Erkrankungen, Vorerkrankungen und Medikation des Kollektivs mit IIa°-Verbrennungswunden bei einmaliger CAP- Anwendung	40
Tabelle 9 - Anzahl der insulinabhängigen und insulinunabhängigen Diabetes mellitus - Patienten der Kohorte chronische Wunden bei einmaliger CAP-Anwendung	44
Tabelle 10 - Erkrankungen, Vorerkrankungen und Medikation des Kollektivs einmalige CAP-Anwendung bei chronischen Wunden	45
Tabelle 11 - Verteilung der Keimspektren vor/ nach CAP	49
Tabelle 12 - Anzahl der insulinabhängigen und insulinunabhängigen Diabetes mellitus - Patienten der Kohorte chronischen Wunden bei repetitiver CAP-Anwendung	50
Tabelle 13 - Erkrankungen, Vorerkrankungen, Medikation sowie Klassifikation des Neuropathiestatus des Kollektivs repetitiver CAP- Anwendung an chronischen Wunden	50

1 Einleitung

1.1 Allgemeines

Schon die Natur- und Heilkundlerin Hildegard von Bingen erwähnte im Mittelalter Wunden – diese könnten durch die Heilung zu einem kostbaren Besitz werden, zu kostbaren Perlen. Die Kunst besteht darin, die Wunden in Perlen zu verwandeln [1].

Noch heute sind die Versorgung und die Behandlung zur Heilung von Wunden eine der Herausforderungen des chirurgischen Alltags. Definiert sind Wunden als eine Trennung des physiologisch geschlossenen Gewebes. Sie können klassifiziert werden in akute und chronische Wunden. Durch mechanische oder thermische Einwirkungen können sie entstehen, seltener durch chemische oder strahlenbedingte Ursachen. Schürfwunden als Beispiel mechanischer Wunden können u.a. von Stich-, Schnitt- oder Quetschwunden abgegrenzt werden. Thermische Wunden (Verbrennungswunden) unterliegen wegen pathophysiologischen Besonderheiten einer besonderen Aufmerksamkeit. Wunden, die nach acht Wochen nicht spontan heilen, werden als chronisch eingestuft. Grundsätzlich können einige Wundarten auch nach kürzerem klinischem Zeitraum als chronisch eingeordnet werden – beispielsweise superinfizierte Wunden, Dekubitus oder Wunden, die aufgrund bekannter schlechter Durchblutungsverhältnisse beispielsweise wegen einer arteriellen Verschlusskrankheit entstanden sind [2].

Wundheilung stellt ein komplexes Thema dar, insbesondere die Pathogenese von chronischen Wunden ist bisher nur wenig verstanden. Ca. 1% der Bevölkerung in Industrieländern leidet an chronischen Wunden [3]. Der demographische Wandel mit stetig steigendem Lebensalter sowie die Verbreitung von Wohlstandserkrankungen wie beispielsweise das metabolische Syndrom sind ursächlich für die zunehmende Multimorbidität. Diabetes mellitus und arterielle Hypertonie stellen zwei Erkrankungsbilder des metabolischen Syndroms dar. Der Gesundheitsbericht der deutschen Diabetesgesellschaft aus dem Jahr 2018 gibt an, dass ca. 7-8% der deutschen erwachsenen Bevölkerung an Diabetes mellitus Typ 2 leidet. Die Gesamtprävalenz von Diabetes-Erkrankungen liegt bei 9,9%. Deutschlandweit leiden ca. 2-10% am diabetischen Fuß-Syndrom (DFS). „Jeder vierte Diabetiker erleidet im Laufe seines Lebens ein DFS!“ [4]. Schwere Durchblutungsstörungen und erhöhte Infektionsraten durch Diabetes mellitus stellen Hauptursachen für die Entwicklung chronischer Wunden und infolge dessen auch von Amputationen dar [5]. Dies ist insbesondere unter Berücksichtigung des hohen Rezidivrisikos von Fußläsionen und den hohen Behandlungskosten von Amputationen von hoher gesundheitsökonomischer Relevanz [4]. Zudem

ist die 5-Jahres-Mortalitätsrate von diabetesbedingten Amputationen und deren gesundheitlichen Folgen mit über 50% nicht zu unterschätzen [5].

Die arterielle Hypertonie stellt einen Hauptrisikofaktor für die Entstehung der Arteriosklerose dar [6]. Diese ist wiederum ursächlich für die Entwicklung der arteriellen Verschlusskrankheit. Etwa 3-10% der Allgemeinbevölkerung leidet an der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK); mit höherem Lebensalter (>70 Jahre) steigt die Prävalenz auf etwa 20%. Durch die pAVK kommt es zur Minderdurchblutung bis hin zur kritischen Extremitätenischämie, die mit einem erhöhten Risiko für Wunden und Amputationen einhergeht [7].

Aufgrund der oben genannten Verschlechterung der Durchblutungssituation sind Diabetes mellitus und die arterielle Hypertonie wichtige Faktoren bei der Entstehung von Wundheilungsstörungen und folglich Ursache chronischer Wunden. Auch andere Erkrankungen wie venöse Erkrankungen, Hauterkrankungen und Karzinome haben chronische Wunden zufolge. Da diese Erkrankungen mit steigendem Lebensalter auftreten, steigt die Inzidenz chronischer Wunden mit dem Alter [8, 9].

Wie bereits oben erwähnt stellen Verbrennungswunden besondere Herausforderungen für die chirurgischen Behandler dar [10]. Einerseits ist der Verlauf von Verbrennungswunden initial erschwert einzuschätzen, da die Rekapillarisation durch Thrombosierung von Mikrokapillaren abnehmen kann [11]. Andererseits sind systemische Reaktionen wie u.a. das systemische inflammatorische Response-Syndrom (SIRS) und hypovolämischer Schock (sog. Verbrennungskrankheit) Folgen, die die Behandlung erschweren können. Deren Auftreten steigt mit höherem Anteil der verbrannten Körperoberfläche. Weiterhin bringt die Schädigung der Hautfunktionen Mikrozirkulationsstörungen mit sich, die die Prozesse der physiologischen Wundheilung stören [12–14].

Angesichts der hohen Prävalenz von chronischen Wunden und der herausfordernden Behandlung von Verbrennungswunden ist die Erforschung von Therapien zur Verbesserung der Wundheilung von großem klinischen Interesse. Zudem stellen die generellen Folgen chronischer Wunden einen großen gesundheitsökonomischen Aspekt dar, was das Interesse unterstützt effiziente Behandlungsstrategien zu entwickeln.

Es konnte gezeigt werden, dass direktes kaltes atmosphärisches Plasma (di_CAP) Auswirkungen auf die Mikrozirkulation von menschlichem Gewebe hat [15]. Außerdem beeinflusst es mikrobielle Besiedlungen, womit es unterstützende Wirkungen auf Wundheilungsprozesse haben kann [3, 16]. Vorangegangene Studien zeigten zudem unterstützende Effekte des CAP auf schlecht heilende Wunden – es kann die Geweberegeneration und Wundheilung verbessern [17].

In dieser Arbeit wird die Mikrozirkulation von drei unterschiedlichen Wundarten untersucht: akut spontanheilende Wunden, Verbrennungswunden und chronische Wunden. Es wird geprüft, inwiefern die Anwendung von di_CAP die kutane Mikrozirkulation beeinflussen kann. Die Sauerstoffsättigung, der kapilläre Blutfluss und der postkapilläre venöse Füllungsdruck werden als Parameter der Mikrozirkulation quantitativ erhoben. Durch die Erhebung der Mikrozirkulation als Surrogatparameter der Wundheilung können mögliche Rückschlüsse auf Heilungstendenzen von Wunden gezogen werden [18].

1.2 Wunden und Wundheilung

Störungen der physiologischen Hautintegrität durch Gewebsverletzungen werden als Wunden bezeichnet. Die Heilung dieser stellt einen komplexen physiologischen Prozess dar, an dem zahlreiche Zellen, Mediatoren und Signalmoleküle beteiligt sind.

Die Physiologie der Wundheilung teilt sich in drei Phasen: exsudativ- inflammatorische (Tag 1-3), proliferative (Tag 4-7) und reparative Phase (Tag 8-12). Gewebsverletzungen mit Zerstörung von Kapillaren führen zur Aktivierung der extrinsischen und intrinsischen Gerinnungskaskade. Dies stellt den Beginn der exsudativen inflammatorischen Phase dar [19]. Aktivierte Thrombozyten und andere verletzte Zellen schütten diverse Wachstumsfaktoren und Zytokine aus. Während der Inflammation sind PDGF („platelet-derived growth-factor“), TGF- β („transforming growth factor beta“), IGF („insulinlike growth factor“) und EGF („epidermal growth factor“) wichtige Mediatoren. Sie aktivieren Entzündungszellen, vor allem neutrophile Granulozyten und Monozyten.

48-96 Stunden nach der Verletzung spielen insbesondere Monozyten eine zentrale Rolle im Prozess der Mediatorfreisetzung zur Aktivierung von Fibroblasten, Keratinozyten und leiten die Angiogenese über die Ausschüttung von TNF- α (tumor necrosis factor alpha), TGF- β (transforming growth factor beta) sowie VEGF (vascular endothelial growth factor) ein. Der Gewebsuntergang führt initial zur Ansäuerung des Gewebes, welches als chemotaktisches Signal der Granulozytenaktivierung wirkt und damit Bakterien bekämpft. Die Gefäßproliferation nimmt bis Tag 3 stark zu, wodurch die lokale Durchblutung gesteigert wird. Es beginnt der Prozess der Angiogenese. Dies führt zu einer verbesserten Sauerstoff- und Nährstoffversorgung des Gewebes und ermöglicht einen verbesserten Kohlenstoffdioxidabtransport, was auch das Säure-Base-Milieu reguliert [20].

Folglich wird die proliferative Phase eingeleitet. Diese ist durch Reepithelialisierung sowie Aufbau der extrazellulären Matrix gekennzeichnet. Keratinozyten und Fibroblasten spielen in dieser Phase die Schlüsselrollen. Die Proliferation geht in die Reparationsphase über. Die Freisetzung von PDGF und EGF aus Makrophagen und Thrombozyten wirken stimulierend - Fibroblasten differenzieren zum Teil zu Myofibroblasten aus, die für die Wundkontraktion und damit Annäherung der

Wundränder verantwortlich sind [21]. Die Wundkontraktion ermöglicht den Keratinozyten eine schnellere Reepithelialisierung [20].

Ein wesentlicher stimulierender Faktor für die Proliferation von Endothelzellen ist die vermehrte Produktion von NO (Stickstoffmonoxid), die durch die lokale Hypoxie im Wundbereich hervorgerufen wird. NO erhöht die Freisetzung von VEGF. Schon 1986 wurde gezeigt, dass NO über Endothelzellen Einfluss auf den Gefäßtonus hat [20, 22]. Der Reparationsphase schließt sich die Differenzierungsphase an, auch Remodeling genannt. Diese dauert zwischen 2 Wochen und einem Jahr [23]. Das Narbengewebe wird im Verlauf der Zeit reißfester und damit belastungsstabiler [24].

1.2.1 Wundheilungsstörungen - Ursachen chronischer Wunden

Nach klinischen Gesichtspunkten können akute von chronischen Wunden unterschieden werden. Akute Wunden heilen innerhalb von 2-4 Wochen komplikationslos aus. Falls es durch unphysiologischen Ablauf und verlangsamter Wundheilung trotz adäquater Therapie zu keiner Abheilung innerhalb von 8 Wochen kommt, bezeichnet man Wunden als chronisch – es ist dann von einer Wundheilungsstörung auszugehen.

Wundheilungsstörungen sind meist nicht auf eine einzelne Ursache zurückzuführen. Vielmehr ist es das Zusammenwirken unterschiedlicher Faktoren, die den Wundheilungsprozess einschränken. In infizierten Wunden kommt es zur Fehlsteuerung der Entzündungszellen und Zytokine, die die Balance der physiologischen Wundheilung stört. Zu Infektionen kommt es durch mikrobielle Besiedlung - einerseits primär während des Verletzungsvorgangs, andererseits sekundär durch Keimbesiedlung im Verlauf [20]. Ungünstige Nährstoffverhältnisse können Wundheilungsstörungen begünstigen, beispielsweise Nährstoffmangel bei Kachexie oder Suchterkrankungen wie Alkoholabhängigkeit [25].

Diabetespatienten weisen Störungen des Glukosestoffwechsels auf, was sie für Wundheilungsstörungen durch Mikro- und Makroangiopathie prädisponiert. Hinzu kommt die Polyneuropathie, die zu einer schlechten taktilen Wahrnehmung führt, sowie die Schädigung motorischer Nervenfasern, die Fußfehlstellungen bedingen kann. Verletzungs- bzw. Ulzera bedingte Schmerzen sind durch die Neuropathie vermindert. Dies schränkt Schutzfunktionen ein wie das Verlagern und Zurückziehen des Fußes bei normalerweise druck- oder stoßbedingten Schmerzen. Diese Faktoren verstärken das Risiko für Druckulzerationen. Die Mikro- und Makrozirkulationsstörungen verringern den Blutfluss im Wundbereich und damit die Nährstoffversorgung [20]. Das diabetische Fußsyndrom (DFS) wird zudem durch funktionelle Mikrozirkulationsstörungen begünstigt – sympathische Nervenfasern sind in ihrer Funktion gestört, was zu weitgestellten arteriovenösen Shunts in der Haut führt und lokale Hypoxie hervorruft [26].

Ein weiterer Hauptrisikofaktor chronischer Wunden sind vaskuläre Erkrankungen, insbesondere die arteriosklerotisch bedingte arterielle Verschlusskrankung oder die chronisch venöse Insuffizienz [7, 20]. Aus den pathologischen Prozessen resultieren Durchblutungsstörungen, die zu Gewebshypoxie führen und von Entzündungsprozessen begleitet werden. Durch die chronische Unterversorgung von Sauerstoff und Nährstoffen kommt es insbesondere in der Peripherie zum Gewebsuntergang [27]. Klinisch wird die pAVK nach Fontaine oder Rutherford-Stadien eingeteilt (Tab. 1). Als einfaches diagnostisches Mittel für die Hämodynamik ist die Messung des Ankle-Brachial-Indexes (ABI, Tab. 2) mittels Dopplerverschlussdruck etabliert. Dieser wird aus dem Blutdruckquotienten von Unterschenkel zu Arm ermittelt. Sowohl erniedrigte als auch erhöhte ABI-Werte sind mit einer erhöhten Mortalitätsrate assoziiert. Ein ABI >1,3 kann Hinweise auf eine Mediasklerose geben, die gehäuft bei Diabetespatienten vorkommt, da durch die sklerosierte Mediaschicht der Arterien der Verschlussdruck des Unterschenkels steigt [7]

Fontaine Stadium	Klinisches Bild	Rutherford Grad	Kategorie	Klinisches Bild
I	asymptomatisch	0	0	asymptomatisch
IIa	Gehstrecke >200m	I	1	Leichte Claudicatio intermittens
IIb	Gehstrecke <200m	I	2	Mäßige Claudicatio intermittens
		I	3	Schwere Claudicatio intermittens
III	Ischämischer Ruheschmerz	II	4	Ischämischer Ruheschmerz
IV	Ulkus, Gangrän	III	5	Kleinflächige Nekrose
		III	6	Großflächige Nekrose

Tabelle 1 - Klassifikation der pAVK nach Fontaine und Rutherford anhand klinischer Kriterien.

ABI	Interpretation
>0,9 – 1,2	Normwert
0,75 – 0,9	Leichte pAVK
0,5 – 0,75	Schwere pAVK
>1,3	Hinweis auf Mediasklerose

Tabelle 2 - Interpretation des vermessenen Ankle-brachial-Indexes.

Chronische Wunden (Abb. 1) weisen abhängig der Genese Prädilektionsstellen auf. Für das DFS sind Läsionen insbesondere im Bereich des ersten Mittelfußknochens, an der Ferse sowie seltener an Zehen lokalisiert [26]. Ulzera durch AVK kommen überwiegend akral an den Füßen vor und treten im Bereich des Außenknöchels oder über der Schienbeinkante auf [28].



Abbildung 1 - Chronische Wunden. Links: typisches DFS; rechts: Mischbild einer fortgeschrittenen pAVK sowie Diabetes mellitus Typ 2.

1.2.2 Verbrennungen und Verbrennungswunden

Laut WHO erleiden jährlich ca. 265.000 Menschen Verbrennungs- oder Verätzungsverletzungen [14]. 2018 wurden in Deutschland in spezialisierten Verbrennungszentren insgesamt 1802 Erwachsene und 2621 Kinder versorgt [29]. Derartige Verletzungen werden nach folgenden Entstehungen unterschieden: Verbrühungen mit heißen Flüssigkeiten oder Wasserdämpfen, Verbrennungen durch direkte Flammeneinwirkung und Kontaktverbrennungen, Verätzungen durch Laugen und Säuren als Verletzungen nichtthermischer Genese sowie Verbrennungen durch elektrischen Strom [14]. 2018 erlitten 49% der erwachsenen Patienten Verbrennungen durch direkte Flammeneinwirkung bzw. Verpuffung, 24% durch Verbrühungen, 7% waren Kontaktverbrennungen, 6% verbrannten sich mit Fett/ Öl, 2% erlitten Stromunfälle. 5% waren auf Explosionen zurückzuführen. Kinder verbrühten sich am häufigsten (2018 72%). Bei Unterscheidung nach Unfallhergängen fanden 2018 70% im häuslichen oder freizeitlichen Umfeld statt, 21% waren Arbeitsunfälle, 3% Suizidversuche, 1% kriminelle Delikte 1% sind auf Verkehrsunfälle zurückzuführen. Kinder verunfallten zu 96% in häuslicher bzw. freizeitlicher Umgebung [29].

Zur Einschätzung der Prognose und weiteren Therapieplanung werden Brandverletzungen klinisch nach Verbrennungstiefen und dem Flächenausmaß in Relation zur Körperfläche (KOF) beurteilt. Ob chirurgische Interventionen und Hauttransplantationen notwendig sind, wird anhand der

Verbrennungstiefe entschieden. Diese werden klinisch in drei Grade eingeteilt. Auf die Epidermis beschränkte Verbrennungen, mit einem schmerzhaften Erythem und ausgeprägter Hautschwellung, werden als Grad I charakterisiert. Verbrennungen I. Grades heilen narbenlos aus, es ist keine chirurgische Therapie erforderlich. Als Beispiel ist der Sonnenbrand zu nennen. Verbrennungen II. Grades werden abhängig von der Schädigung der Dermisanteile in IIa (oberflächliche Dermis betroffen) und IIb (tiefere Dermissschicht betroffen) eingeteilt (Abb. 2). Gemein ist ihnen die komplette Schädigung der Epidermis. Während IIa°-Verbrennungen durch flüssigkeitsgefüllte epidermale Hautblasen mit vitalem, gut durchblutetem Wundgrund charakterisiert sind und mit starken Schmerzen einhergehen, weisen IIb°- Verbrennungen nach Entfernung der kaum flüssigkeitsgefüllten bzw. trockenen Blasen einen weißlichen Wundgrund mit verzögerter Rekapillarisation auf. Da die Schmerzrezeptoren mitgeschädigt sind, werden diese Verletzungen kaum von Schmerzen begleitet. Hier ist die chirurgische Intervention, beispielsweise die Hauttransplantation, immer notwendig, nachdem die primäre Exzision oder Nekrosectomie des verbrannten Gewebes durchgeführt wurde. Verbrennungen III. Grades sind durch die Schädigung aller Hautschichten gekennzeichnet (Abb. 3). Klinisch zeigt sich ein weißer Wundgrund, der keine Rekapillarisation mehr aufweist. Die Verbrennung kann auch Hautanhangsgebilde betreffen [14].

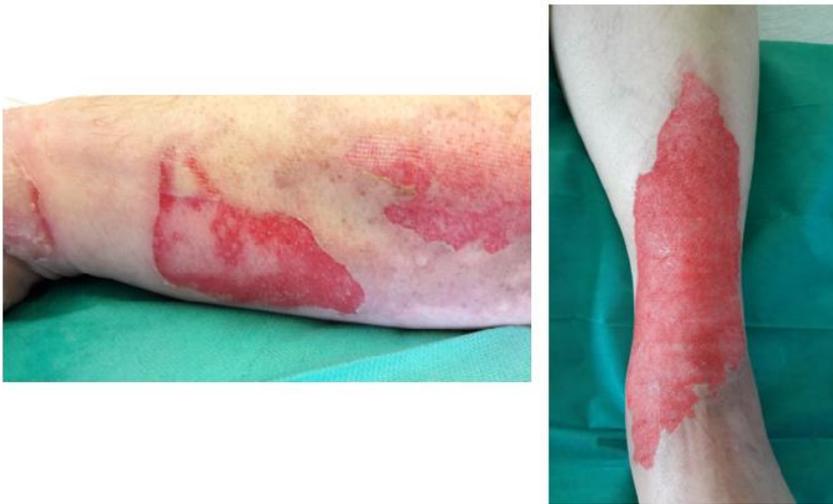


Abbildung 2 - Mischbild von zwei Verbrennungswunden nach Blasenabtragung. Links: Verbrennungswunde mit Anteilen von IIa° im Außenbereich sowie tieferer IIb°- Verbrennung zentral; rechts: IIa°-Verbrennungswunde.



Abbildung 3 - Fotografische Aufnahme einer Patientin beim Verbandswechsel mit ausgeprägten Verbrennungen, insbesondere weisen Rücken und Arme III°-Verbrennungen auf.

Die Haut hat als größtes Organ des menschlichen Organismus vielfältigste physiologische Aufgaben, u.a. der mechanische Schutz gegen äußere Einflüsse und Keime sowie die Regulierung des Flüssigkeits- und Wärmehaushalts. Verbrennungen beeinträchtigen diese Funktionen der Haut. Das Schädigungsausmaß ist abhängig von der Temperatur und der Einwirkzeit. Entstandene Hautläsionen werden histologisch in drei Zonen eingeteilt (Abb. 4): Zone 1 – Nekrosezone, die sich im Zentrum der Läsion befindet und durch irreversible Gewebsschädigung charakterisiert wird. Zone 2, die sog. Stasezone, grenzt an die Nekrosezone. Sie wird durch die gestörte Gewebserfusion mit Anteilen vitaler und deutlich geschädigter Zellen definiert. Die Stasezone kann sich im Verlauf zur Koagulationsnekrose entwickeln, was als "Nachbrennen" bezeichnet wird. Es schwemmen vasokonstriktive und entzündliche Mediatoren ein. Zone 3 ist die Hyperämiezone, in der es durch die lokale Entzündungsreaktion zur Vasodilatation kommt. Hier sind vitale Zellen zu finden, von denen die physiologische primäre Wundheilung ausgeht [14].

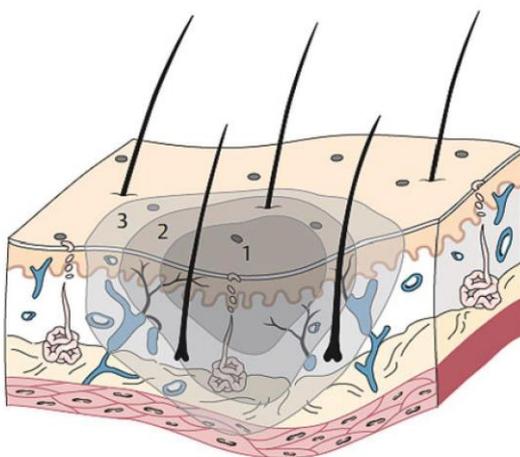


Abbildung 4 - Histologische Einteilung der Verbrennung nach Jackson. Zone 1: innere Zone der Nekrose (irreversibel). Zone 2: mittlere Zone der Stase (reversibel-irreversibel). Zone 3: äußere Zone der Hyperämie (reversibel) [14].

Durch die Hitzeeinwirkung werden auf Zellebene Proteindenaturierungen und Zellmembranstörungen hervorgerufen. Es kommt zur Ausbildung von Koagulationsnekrosen; die Verschlechterung der kutanen Mikrozirkulation ist die Folge [13]. Einerseits werden Kapillaren direkt geschädigt, andererseits führt die verminderte Perfusion zur Freisetzung von Toxinen und Mediatoren. Die Endothelzellschädigung und die Folgen der Mediatorenausschüttung bringen Flüssigkeitsverschiebungen ins Interstitium mit sich, wodurch ausgeprägte Ödeme und ein massiver intravasaler Flüssigkeitsverlust entstehen können, sog. „Verbrennungskrankheit“ [30]. Infolgedessen entstehen lokale Ödeme. Metabolite wie Endothelin, Histamin, Bradykinin, Serotonin, Katecholaminen, Vasopressin, Prostaglandine, TNF- α , Nitrogene und Monoxide induzieren eine inflammatorische Antwort [31]. Komplementabhängig werden Neutrophile aktiviert, die reaktive Sauerstoffradikale sowie proinflammatorische Zytokine wie IL-1, TNF- α und IL-6 freisetzen [12, 32]. Durch die ischämische Gewebsnekrose entstehen toxische Nebenprodukte, die molekulare Mechanismen beeinflussen, dermale Strukturen können weiter zerstört werden. Diese Prozesse laufen insbesondere in der Stasezone ab. Hypovolämie, Gewebeödem und Infektionen sind weitere Faktoren, die die Mikrozirkulation stören [10]. Zudem verschlechtern vasokonstriktorische Medikamente zur Schockbekämpfung die kutane Mikrozirkulation [31]. Die Entzündungsmediatoren werden systemisch ausgeschwemmt, was vor allem bei großflächigen Verbrennungen (>20% verbrannte KOF) Konsequenzen hat. In Verbindung mit enormen Flüssigkeitsverlusten und -verschiebungen kann dies zum hypovolämischen Schock mit kardiovaskulären Funktionsstörungen und weiteren Organdysfunktionen, im Extremfall zum Multiorganversagen, führen [13].

1.3 Kutane Mikrozirkulation

Der Blutkreislauf wird in Makro- und Mikrozirkulation unterteilt. Es gilt als eines der größten Organsysteme des menschlichen Organismus. Allein das Endothel, welches die innerste Wandschicht von Blutgefäßen auskleidet, umfasst eine Gesamtoberfläche von 1000m², worüber täglich bis zu 80.000L Flüssigkeit ausgetauscht werden [33]. Die Gesamtlänge des Blutgefäßsystems umfasst 20.000 - 40.000km, was der Länge des Äquators entspricht. Die kleinen und kleinsten Gefäße, in denen die Mikrozirkulation stattfindet, machen ca. 99% der Blutgefäße des Menschen aus. Diese stellen die kleinste funktionelle Einheit des Herz-Kreislauf-Systems dar und bestehen aus Arteriolen, Kapillaren und Venolen, die einen maximalen Durchmesser von 150 μ m haben [34, 35].

Das Gefäßsystem der Haut ist dreidimensional aufgebaut. Es besteht aus senkrecht und horizontal zur Hautoberfläche gerichteten Gefäßen. Die Ursprünge liegen in den oberflächlichen Muskellogen, die einen waagrecht zur Oberfläche verlaufenden tiefen dermalen Plexus (2mm unterhalb der

Hautoberfläche) an der Kutis- Subkutisgrenze bilden. Aus dem tiefen dermalen Plexus entspringen Gefäße, die senkrecht zur Hautoberfläche verlaufen und den oberen subepidermalen Gefäßplexus (400 - 500µm) bilden. Die Kapillargefäßsysteme der Haut werden aus beiden Plexus gebildet (Abb. 5) [36, 37]. Der tiefe Plexus ist vor allem für die nutritive Versorgung verantwortlich [36, 38]. Anastomosen zwischen den Plexus ermöglichen die Blutzirkulation zwischen Oberfläche und Tiefe. Der größte Anteil der mikrovaskulären Hautversorgung befindet sich in der papillären Dermis, 1-2mm unterhalb der epidermalen Oberfläche [37]. Anatomisch betrachtet sind die Arteriolen den Kapillaren vorgeschaltet, die wiederum die Venolen mit Blut speisen. Die kleinen Gefäße bilden eine mikrozirkulatorische Einheit [38].

Die Kapillaren besitzen anders als die Arteriolen keine glatten Muskelzellen, was für die unterschiedliche Funktionen ausschlaggebend ist. Sie bilden den Übergang vom arteriellen und venösen Gefäßsystem, was sie für den Austausch von Gasen und Nährstoffen zwischen Blut und Gewebe verantwortlich macht [38]. Diese bedarfsgerechte Bereitstellung von Sauerstoff und Nährstoffen sowie der Abtransport von Stoffwechselprodukten wie z.B. Kohlenstoffdioxid ist eine der Hauptfunktionen der Mikrozirkulation. Zur nutritiven Versorgung der Haut zählt insbesondere die regelrechte Sauerstoffversorgung. Die Epidermis wird sowohl über die Kapillaren als auch über Diffusion aus der Atmosphäre mit Sauerstoff versorgt, Korium und Subkutis werden hingegen nur aus dem Gefäßsystem mit Sauerstoff gespeist [36].

Die Mikrozirkulation ist außerdem an der Regulation von Leukozytenadhäsionen und damit an Funktionen des Immunsystems beteiligt [34]. Zudem übernimmt sie die Thermoregulation der Haut.

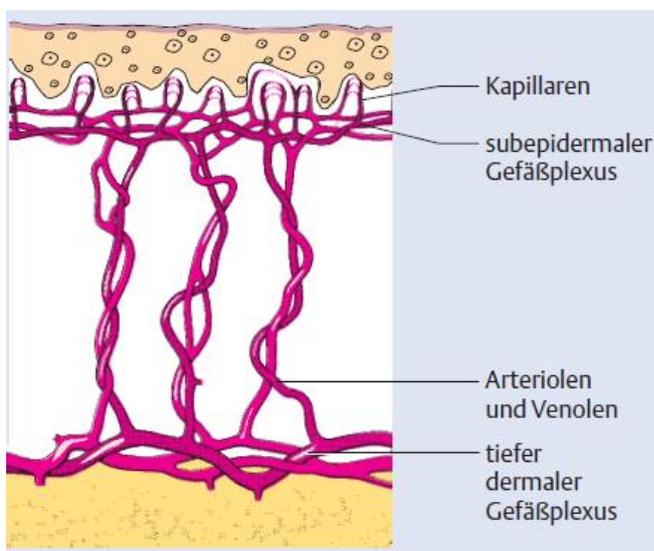


Abbildung 5 - Schema der Epidermis, Dermis und Subkutis mit Gefäßplexus. Der tiefe dermale Plexus ist über Arteriolen und Venolen mit dem subepidermalen Plexus verbunden [81].

Zu starke hydrostatische Druckschwankungen sollen auf Kapillarebene vermieden werden, um Störungen des Nährstoffaustauschs zu verhindern. Ein relevanter Teil des hydrostatischen Druckabfalls wird auf Mikrozirkulationsebene reguliert [35]. Arteriolen reagieren mit Konstriktion und Dilatation auf Veränderungen des Blutdrucks und können selbigen durch Konstriktion steigern. Dieses komplexe Zusammenspiel ist essentiell zur Regulation des systemischen peripheren Widerstandes und damit der Blutdruckregulation [39].

Funktionsstörungen der Basalmembranen und der Endothelzellen führen zu Mikrozirkulationsstörungen. Diese sind an der Pathogenese zahlreicher Krankheiten beteiligt, die u.a. Mikroangiopathien im Rahmen des diabetischen Fußsyndroms erklären [40–44]. Weiterhin wird die Mikrozirkulation durch Faktoren wie u.a. Temperatur, systemischer Blutdruck, Ernährungsstatus, Stress, Nikotinkonsum, physischer Aktivität und Alter beeinflusst [38].

1.4 Kaltes atmosphärisches Plasma

Physikalisch wird Plasma als vierter Aggregatzustand nach den typischen bekannten dreien (fest, flüssig, gasförmig) betrachtet. Aus der Natur sind Wärmeplasmen als Gewitterblitze bekannt. Sie zeigen sich als hochelektrische Entladungen zwischen Wolken bzw. zwischen Wolken und der Erde. Der Chemiker Irving Langmuir beschrieb Plasma erstmalig im Jahre 1928 [17]. Plasmen finden bereits seit Jahrzehnten in verschiedenen Gebieten Anwendung: Sie werden zur Sterilisation und Desinfektion von medizinischen Instrumenten oder Lebensmittelverpackungen genutzt [45–47]. Seit den 1960er Jahren werden sie zur Modifikation von biomedizinischen Produkten eingesetzt [17]. Im Bereich der therapeutischen Anwendungen werden Kaltplasmen gebraucht. Es wird in indirekte und direkte Formen des Plasmas unterschieden. Wenn Plasma aus chemischen Reaktionen innerhalb einer Röhre mit Gasen wie Argon, Helium oder der Luft zwischen zwei Elektroden entsteht, wird es als indirekt bezeichnet. Dies stellt einen fließenden Prozess dar, der Partikel in dem zu behandelnden Objekt aktiviert. Bei der direkten Plasmaerzeugung wird die Haut als Gegenelektrode genutzt. Dadurch erreicht das Plasma direkt die Haut und das darunter liegende Gewebe [16]. Der generierte Strom fließt durch den Körper und entfaltet dort seine Wirkung [3].

Atmosphärisches Plasma ist ein ionisiertes Gas, das aus einem „Gemisch“ geladener Teilchen (Elektronen sowie positiv und negativ geladene Ionen), Molekülen, Atomen und Photonen besteht [48]. Wenn Gasen Energie zugeführt wird, können diese in den Zustand des Plasmas übergehen. Bei der Nutzung von Kaltplasmen werden Wirkkomponenten über ein elektrisches Feld generiert. Chemische und physikalische Wirkkomponenten werden gebildet, darunter zählt u.a. die Generierung von Radikalen und Wärmestrahlungen (Abb. 6). Geladene Partikel wie Ionen und

Elektronen werden in aktivierter Form freigesetzt. Außerdem generieren Plasmen elektromagnetische Strahlungen vom ultravioletten bis in den sichtbaren Spektralbereich [49].

Kaltes atmosphärisches Plasma erzeugt darüber hinaus biologisch aktive Komponenten wie reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies (ROS, RNS) [16, 48, 50]. In Reaktion mit der Umgebungsluft entstehen diese Spezies wie Stickstoffmonoxide (NO), -dioxide (NO₂), Ozon (O₃), Superoxide (O₂⁻), und weitere reaktive Radikale [3, 17, 50]. Sie spielen eine wichtige Rolle in der Abwehr von Mikroorganismen wie Bakterien, Viren und Pilzen [3, 51]. Die reaktiven Spezies kommen physiologisch vor und regulieren u.a. zelluläre Funktionen von eukaryotischen Zellen durch die Bildung von extrazellulären Signalmolekülen wie Hormonen, Wachstumsfaktoren, Neurotransmittern und Zytokinen. Ebenfalls sind sie an intrazellulären Signalwegen beteiligt. Zwei wichtige Aufgaben haben sie dabei inne – die Beteiligung an intrazellulären Redoxreaktionen und damit oxidative Proteinmodifikationen innerhalb der Signalwege [52, 53].

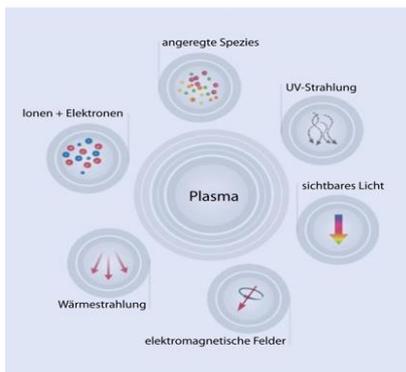


Abbildung 6 - Darstellung der biologisch wirksamen Komponenten von kaltem atmosphärischem Plasma [17].

Plasma und Mikrozirkulation

Kaltes atmosphärisches Plasma kann die Mikrozirkulation an gesunder Haut beeinflussen. In unserer Forschungsgruppe konnte nach einmaliger Plasmaanwendung an radialen Unterarmen eine Erhöhung der lokalen kutanen Sauerstoffsättigung und des kapillären Blutflusses gezeigt werden. Die mehrfache di_CAP-Anwendung steigerte die Effekte und verlängerte die Wirkdauer. Diese Ergebnisse wurden mittels Weißlicht- und Laser-Doppler-Spektrometrie quantifiziert [15, 54]. Auch andere in vitro und in vivo Studien lassen vermuten, dass CAP die Mikrozirkulation beeinflussen kann [55–58].

Plasma und Keimreduktion

Die zunehmende Resistenzlage von Mikroorganismen gegen Arzneimittel spielt im klinischen Alltag eine große Rolle. Wundheilungen können durch die Besiedlung mit Bakterien (am häufigsten Staphylokokken, aber auch Streptokokken und Pseudomonaden) und Bildung von Biofilmen

beeinträchtigt sein. In mehreren Studien konnte der Einfluss von Plasma auf diese Besiedlungen mit Mikroorganismen gezeigt werden [48, 51, 59–61].

1.5 Fragestellungen

Aus den bisherigen Überlegungen leiten sich folgende Fragestellungen ab:

1. Beeinflusst die Anwendung von direktem kaltem atmosphärischem Plasma die Mikrozirkulation von Wunden?
2. Welche Effekte hat die mehrmalige Anwendung des direkten kalten atmosphärischen Plasmas auf die Mikrozirkulation in Wunden?
3. Zeigt die Plasmaanwendung Wirkungen auf die Keimbesiedlung von Wunden?

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign und -rahmen

Diese Studie achtete die ethischen Grundsätze basierend auf den Richtlinien der Deklaration von Helsinki. Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck unter der Autorisierungsnummer 14-266 am 14.01.2015 genehmigt und ist bei ClinicalTrials.gov registriert (NCT02417818).

Die klinische prospektive Studie wurde im Zeitraum von November 2015 bis September 2019 am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck in der Klinik für Plastische Chirurgie, Handchirurgie, Intensivstation für Schwerbrandverletzte durchgeführt.

Die Erhebung der Mikrozirkulation erfolgte auf oberflächlichen spontanheilenden Wunden (Spalthautentnahmestellen), an oberflächlich verbrannten Hautarealen (IIa°-Verbrennungsverletzungen) sowie auf nicht spontanheilenden (chronischen) Wunden vor und nach der Therapie mit direktem kaltem atmosphärischem Plasma (di_CAP).

Summiert wurden 100 Patienten während ihres stationären Aufenthalts rekrutiert. Sie wurden nach ausführlicher Aufklärung, schriftlicher Einwilligung und Prüfung auf Ein- und Ausschlusskriterien in die Studie eingeschlossen.

2.2 Studienteilnehmer

2.2.1 Einschlusskriterien

Eingeschlossen in die Studie wurden Patienten, die in der plastisch-chirurgischen oder gefäßchirurgischen Abteilung des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck behandelt wurden. Es konnten männliche und weibliche Studienteilnehmer, die mindestens 18 Jahre alt waren und selbstständig in die Studie einwilligen konnten, teilnehmen.

Patienten mit spontan heilenden Wunden kamen bis innerhalb der ersten drei Tage nach Spalthautentnahme an der Entnahmestelle des ventralen Oberschenkels für die Studie infrage, wenn die Wunde bis zur Messung/ Anwendung okklusiv verbunden war.

Patienten mit IIa°- Verbrennungswunden konnten rekrutiert werden, wenn deren Verbrennung/ Verbrühung innerhalb der letzten 48 Stunden entstand. In dieser Kohorte galten zusätzliche Einschlusskriterien: die vorhandene Rekapillarisation und ein Feuchtverband auf der Wunde.

Patienten mit Diabetes mellitus und/ oder einer peripheren Verschlusskrankung (pAVK), deren Wunde an der unteren Extremität nach drei Wochen nicht abheilte, wurden in die Studie

eingeschlossen. Die Wundklassifikation erfolgte nach Wagner. Anhand dieser Einteilung wurden Wunden der Grade 1-3 in die Studie eingeschlossen.

2.2.2 Ausschlusskriterien

Als Ausschlusskriterien wurden definiert: Hauterkrankungen im Applikations- und Messbereich, Therapien mit Immunsuppressiva oder Kortison, tiefe Venenthrombosen und Gerinnungsstörungen sowie Schwangere oder stillende Patientinnen. Ebenfalls als Ausschlusskriterien galten: Lokalisationen der Wunden in Lungen-, Gehirn- oder Rückenmarksnähe oder Infektionen und Tumore in der Nähe des Applikations- und Messbereiches.

2.2.3 Dokumentation

Anhand eines Dokumentationsbogens wurden Krankengeschichten aufgenommen. Weiterhin wurden bei allen Studienteilnehmern Nebenerkrankungen erfasst, insbesondere Gefäßerkrankungen wie Arterielle Hypertonie, Koronare Herzkrankheit (KHK, mit/ ohne Bypass/ Stent), periphere Verschlusskrankheit (pAVK, Stadieneinteilung nach Fontaine) und chronische Veneninsuffizienz (CVI). Zudem wurde die Raucheranamnese (Angabe in packyears = multipliziert die täglich konsumierten Zigarettenschachteln pro Jahr) erhoben.

Dauermedikationen, die Auswirkungen auf das Gefäßsystem haben, wurden erfasst. Dies schließt Medikamente wie Acetylsalicylsäure (ASS), Clopidogrel, Marcumar, Betablocker, Calcium-Antagonisten und Nitrate ein.

Innerhalb der Kohorten wurden weitere Anamnesedaten erhoben: Die Applikation und Messung auf Spalthautentnahmestellen erfolgte bis zum dritten Tag nach der Entnahme der Spalthaut, dieser Zeitpunkt wurde notiert. Bei den IIa°-Verbrennungswunden waren der Anteil der verbrannten Körperoberfläche, der jeweilige Tag nach der Verbrennung und die Verbrennungsursache (z.B. heißes Wasser, Öl, Flamme) relevant.

Bei Patienten mit chronischen Wunden mit Diabetes mellitus (Typ 1 oder Typ 2) wurde der insulinabhängige Diabetes Mellitus Typ 2 vom nicht insulinabhängigen Diabetes Mellitus Typ 2 unterschieden. Weitere Parameter wie aktueller Glykohämoglobinwert (HbA1c), der Zeitpunkt der Erstdiagnose des Diabetes und die Wochenanzahl, in der die Wunde nicht abheilte, wurden festgehalten. Vor Beginn der Messung wurde die Wundgröße in Länge x Breite mit einem Lineal ausgemessen. Der Pulsstatus (Palpation und Gefäß- Doppler) der A. dorsalis pedis sowie der A. tibialis posterior wurde untersucht. Der Ankle-brachial-Index (ABI) wurde nach der Mikrozirkulationsmessung mittels Handdopplergerät und Blutdruckmessung der A. dorsalis pedis bzw. A. tibialis posterior in Relation zum mittleren Blutdruck der Aa. brachiales ermittelt. Weiterhin wurde der diabetische Neuropathiescore (MDNS - Michigan Diabetic Neuropathy Score, Abb. 27) erhoben. Der Dokumentationsbogen ist im Anhang zu finden.

2.3 Anwendungsmethode – Direktes kaltes atmosphärisches Plasma

In dieser Studie wurde der Einfluss von direktem kaltem atmosphärischem Plasma (di_CAP) auf die Mikrozirkulation sowie auf die Keimbesiedlung von Wunden untersucht. Hierzu verwendeten wir das nicht- invasive PlasmaDerm®FLEX9060- Gerät (CINOGY GmbH, Duderstadt), welches direktes kaltes atmosphärisches Plasma generiert (Abb. 7). Die Plasmaerzeugung erfolgt dielektrisch mittels abgegrenzter Entladung. Die Elektrode liegt in elektrisch isoliertem Material, was die Ausweitung der Gaswärme und des Stromflusses limitiert.

Die Elektrode des CAP ist von einem Schwamm mit einem sterilen Abstandshalter umgeben. Der Schwamm ermöglicht die gleichmäßige und flexible Anwendung auf der zu behandelnden Wunde. Das einmalige Applizieren des kalten Plasmas dauerte 90 Sekunden.



Abbildung 7 - PlasmaDerm®FLEX9060 - Gerät (CINOGY GmbH, Duderstadt) zur Applikation des kalten atmosphärischen Plasmas.

2.4 Mikrozirkulationsmessung

Die Mikrozirkulationsmessungen wurden mit dem Oxygen-to-see Gerät (O2C- Gerät, Firma LEA Medizintechnik GmbH, Gießen, Abb. 8) erhoben.

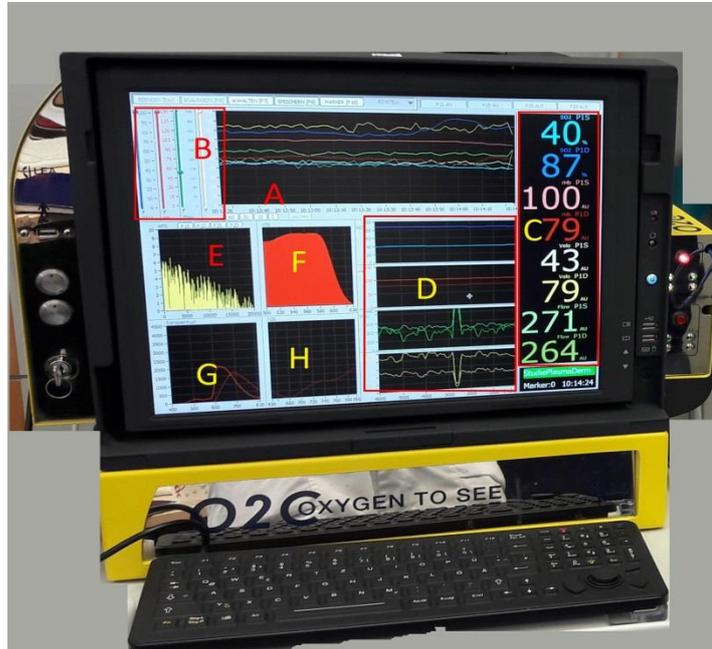


Abbildung 8 - O2C- Gerät der Firma LEA Medizintechnik; Bildschirmübersicht im Darstellungsmodus.

Das Oxygen-to-see ist ein Gerät, das die Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung von menschlichem Gewebe nicht-invasiv erfasst. Es misst mittels Glasfasersonde die Hämoglobinwerte relative Hämoglobinmenge und Sauerstoffsättigung sowie die Durchblutungsgrößen relativer Blutfluss und die Blutflussgeschwindigkeit im Messvolumen des Gewebes ort- und zeitgleich [18]. Mit einer flexiblen Flachsonde ist das parallele Applizieren zur Gewebsfläche des zu messenden Bereiches möglich. Das Gerät kombiniert zwei physikalische Messprinzipien: Weißlichtspektrometrie und Laser-Doppler-Spektrometrie.

Abb. 8 zeigt beispielhaft die Bildschirmübersicht im traditionellen Darstellungsmodus des O2C-Geräts. A stellt die Verlaufsgraphen für die Messparameter als Mittelwerte über 2 Sekunden dar – die Sauerstoffsättigung wird in blau, die relative Hämoglobinmenge in rot, der Blutfluss in grün und die Blutflussgeschwindigkeit in gelb aufgezeichnet. Links davon (B) kann die y-Achse für jede der vier Messgrößen eingestellt werden. Rechts außen (C) sind die aktuellen Werte in einer Gewebetiefe von 2-4mm und 6-8mm für die jeweiligen Parameter (gleiche Farbkennzeichnung wie Graphen B). Mittig rechts (D) werden die Verlaufsgraphen der ungemittelten Werte der vier Parameter angezeigt. Fenster E zeigt ein Histogramm der Geschwindigkeitsverteilung der Erythrozyten, Fenster F das korrigierte Hämoglobinspektrum, Fenster G das Rohspektrum des eingestrahlten Weißlichts und Fenster H das Weißlichtspektrum im infrarotnahen

WeWellenlängenbereich. Die vier zuletzt genannten Felder dienen vor allem der Kontrolle und damit der Justierung der Messsondenapplikation.

2.4.1 Messprinzip Weißlichtspektrometrie

Hier wird Licht eines kontinuierlichen Spektrums des gesamten Wellenlängenbereichs (500 - 800nm) genutzt, um Hämoglobinparameter zu erfassen. Lichtstrahlen werden beim Eintritt ins Gewebe an Mitochondrien gestreut. Durch die Streuung ändern sich die Ausbreitungsrichtung und damit auch die Lichtintensität. Zur Ermittlung der relativen Hämoglobinmenge (rHb) wird die Absorptionsspektrometrie verwendet. Aufgrund wellenabhängiger Blutfarbstoffe (Hämoglobin) wird das Licht unterschiedlich stark absorbiert. Blutreiches Gewebe absorbiert relativ viel Licht, sodass die Sondendetektoren an der Gewebeoberfläche weniger Licht messen. Aus dem absorbierten Lichtanteil berechnet das O2C die relative Hämoglobinmenge. Diese zeigt den mikrovaskulären Füllungsstand und die Gefäßdichte an. Die relative Hämoglobinmenge pro Gewebevolumen ist von Faktoren wie Gefäßdichte, Gefäßlumen und der gesamten Hämoglobinmenge im Blut abhängig.

Es werden sowohl bewegte als auch in einer Blutsäule stehende Erythrozyten erfasst. Daher ist der ermittelte Wert dem relativen, postkapillären venösen Füllungsdruck identisch. Die relative Hämoglobinmenge wird in Arbitrary units (AU) angegeben. Dies sind relative Werte, die zur Erfassung von Veränderungen genutzt werden.

Außerdem berechnet das O2C die aktuellen Sauerstoffsättigungswerte des Hämoglobins. Eine unterschiedliche Sättigung des Blutfarbstoffes verändert die Farbe des eintretenden Lichtstrahls. An der Gewebeoberfläche wird das spektral veränderte Weißlicht detektiert und durch das O2C analysiert. Dementsprechend ist arterielles sauerstoffreiches Hämoglobin hellrot, hingegen venöses niedrig gesättigtes dunkelrot bis blau-violett gefärbt [18].

2.4.2 Messprinzip Laser- Doppler- Spektroskopie

Es wird ein Diodenlaser mit einer spezifischen Wellenlänge von 820nm und einer Leistung von 30mW genutzt [18]. Beim Eintritt in das Gewebe wird der Laserstrahl analog dem Weißlicht an Mitochondrien gestreut. Ein Lichtdoppler erfasst alle Erythrozytenbewegungen in einem Kapillarnetz. Es wird das Prinzip des Doppler- Effekts angewandt: Das Licht hat eine spezifische Wellenlänge, damit entspricht es einer bestimmten Frequenz. Dieses Licht wird beim Auftreffen auf bewegliche Erythrozyten frequenzverschoben. Zur Bestimmung der Frequenzverschiebungen wird die „heterodyne Lichtschwebungstechnik“ genutzt, bei der nicht frequenzverschobenes Licht mit dem frequenzverschobenen Licht ins Verhältnis gesetzt wird. An der Gewebeoberfläche wird die

Frequenzveränderung (in Hertz) detektiert. Aus dieser lässt sich die Blutflussgeschwindigkeit bestimmen. Mit zunehmender Anzahl bewegter Erythrozyten im Gewebe steigt das detektierte Laserlicht-Signal, dessen Wert zum Blutfluss berechnet wird. Der Blutfluss (Angabe in AU) lässt sich aus dem Produkt der Anzahl und der Geschwindigkeit der Erythrozyten und deren gesamter Summe aus allen Erythrozytengeschwindigkeiten in einem bestimmten Messvolumen ($\sum v \cdot N$) ermitteln.

2.4.3 Messwerte- und Messzeitpunkte

Für die Ermittlung der Messwerte aus der kombinierten Weißlicht- und Laser- Doppler-Spektrometrie emittiert und detektiert die Messsonde 20 Lichtimpulse pro Sekunde. Das Oxygento-see-Gerät speichert über einen internen Festplattenspeicher alle 2 Sekunden einen Messwert pro Parameter. Die Flachsonde wurde vor, zwischen und nach den jeweiligen Anwendungsmethoden auf der gleichen Gewebestelle platziert. Zu allererst wurde die Baseline über mindestens 5 Minuten ermittelt. Dies diente der Erfassung der Ausgangsdurchblutung, wofür geradlinige Verläufe der Graphen erreicht werden sollten, bevor die erste Anwendung durchgeführt wurde. Mittelwerte wurden aus den gesamten Messzeiten (variabel 10 – 30 Minuten je nach Anwendungs- und Messprotokoll) erhoben.

2.5 Studienablauf

Nach ausführlicher Patientenaufklärung gemäß dem Ethikprotokoll, Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien und schriftlicher Einwilligung wurden Patienten in die Studie eingeschlossen.

Die Fotodokumentation der Wunden erfolgte nach Platzierung auf einem grünen, sterilen Tuch (Abb. 9). Die Patienten ruhten 15 Minuten in liegender Position mit leicht erhöhtem Kopfteil vor Beginn der Messung.

Die anschließenden Messungen und Methodenanwendungen werden getrennt aufgeführt:

2.5.1 Einmalige lokale Anwendung mit CAP auf akuten Wunden

Vor jeder Messung der Mikrozirkulation und CAP- Anwendung wurde ein mikrobiologischer Wundabstrich von den Verbrennungswunden und Spalthautentnahmestellen genommen. Dieser wurde auf mögliche Erreger und Resistenzen hin untersucht. Falls die Wunde mit Koagulationsresten oder Hautfetzen verunreinigt war, wurde sie nach dem Wundabstrich mit Natrium-Chlorid-Lösung gesäubert. Verbrennungswunden wurden in Wundbereichen gemessen, die eine Rekapillarisation zeigten. Die Hautsonde des O2C war mit durchsichtiger Tegadermfolie™ (Hersteller 3M Deutschland GmbH, Neuss) blasenfrei umhüllt (Abb. 9). Befestigt wurde sie mittels transparenten Fixierpflastern Transpore™ (Hersteller 3M Deutschland GmbH, Neuss), sodass die

Sondenfläche parallel zur Wundoberfläche auflag und sich während der Messung nicht verschieben konnte.

Die Mikrozirkulation wurde mit dem Oxygen-to-see Gerät zunächst über 5 Minuten gemessen (=Baseline). Die Baselinemessung wurde zum Vergleich zur Mikrozirkulation nach der lokalen Anwendung mit CAP verwendet. Es folgte die CAP- Anwendung für 90 Sekunden im selben Wundbereich (Abb. 9). Direkt danach wurde ein erneuter Wundabstrich genommen. Anschließend wurde die Mikrozirkulation über 30 Minuten an gleicher Lokalisation gemessen.

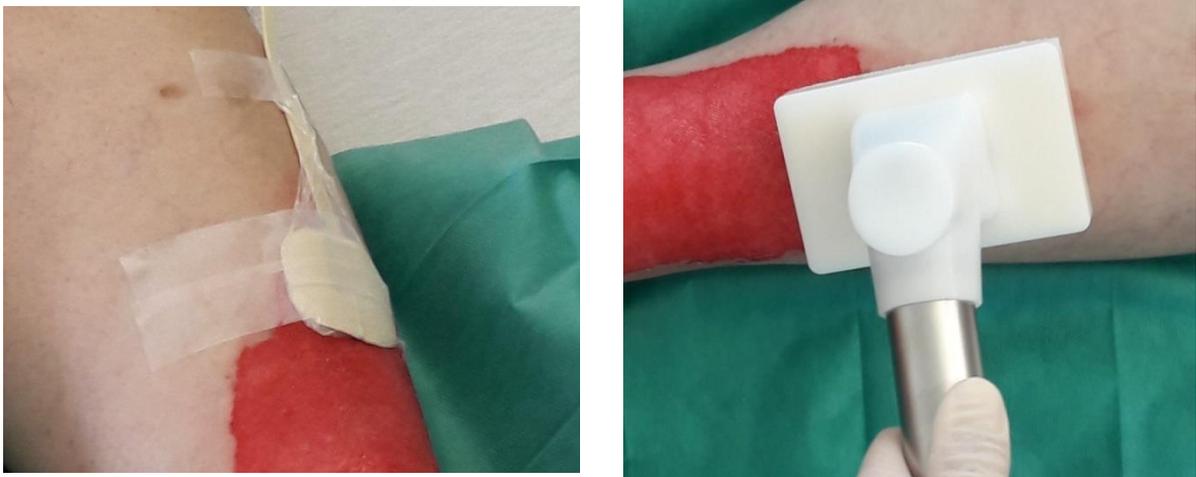


Abbildung 9 - Links: die O2C-Sonde ist auf einer IIa°-Verbrennungswunde eines ventralen Unterschenkels befestigt, rechts: die Applikation von kaltem atmosphärischem Plasma mit dem PlasmaDerm-Device auf derselben IIa°-Verbrennungswunde.

2.5.2 Repetitive lokale Anwendung mit CAP auf akuten Wunden

Die Vorbereitung der Wunde zur Mikrozirkulationsmessung und repetitiven CAP- Therapie unterschied sich nicht von oben genannter einmaliger CAP- Anwendung. Nach dem Wundabstrich und der Reinigung der Wunde erfolgte die Bestimmung der Baseline über 5 Minuten. Das kalte atmosphärische Plasma wurde dreimal, jeweils 90 Sekunden appliziert. Nach erster und zweiter Anwendung wurde die Mikrozirkulation über jeweils 10 Minuten aufgezeichnet. Direkt nach der dritten Anwendung wurde ein erneuter Wundabstrich genommen. Anschließend wurde die Mikrozirkulation über weitere 20 Minuten gemessen.

2.5.3 Einmalige und repetitive lokale Anwendung mit CAP auf chronischen Wunden

Die Durchführung der Mikrozirkulationsmessung und CAP- Anwendung auf chronischen Wunden unterschied sich nicht von den Anwendungen auf spontanheilenden Wunden. In diesem Teil der

Studie wurde eine Wundklassifikation nach Wagner vorgenommen (Abb. 26) und der ABI bestimmt. Patienten, die Grad 4 oder 5 in der Wagner Ulzera- Klassifikation aufwiesen, wurden von der Studienteilnahme ausgeschlossen. Außerdem wurde der diabetische Neuropathiestatus mittels MDNS (Abb. 27) erhoben. Der Score berechnet sich aus verschiedenen neurologischen Aspekten wie der Sensibilität in der Peripherie (Vibration, Druckreize), den Muskeleigenreflexen und der Muskelkraft (Fingerabduktion, Großzehenextension).

2.6 Statistische Analyse

Die gesamten aufgenommenen Parameter des O2C wurden in das Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft® Excel® für Office 365 MSO (Microsoft Corporation, Version 1908, Redmond, USA) eingefügt. Mit diesem Programm wurden für metrische Daten Mittelwerte und Standardabweichungen über alle Minuten der Messzeiten berechnet. Diese wurden in eine Statistiksoftware (IBM® SPSS® Statistics, Version 25, Ehningen) überführt. Dort wurde der T-Test für verbundene Stichproben gewählt, nachdem die Normalverteilung mittels Normal- Quantil- Plot geprüft wurde. Der T-Test wurde genutzt, um statistische Berechnungen in der vorab festgelegten Reihenfolge der gemessenen Werte des O2C nach den Anwendungen zu ermitteln. Da es sich um separate Studien handelte, wurde unadjustiert getestet.

Für dichotom verbundene Messgrößen wurde der McNemar-Test angewandt, in diesem Fall für die mikrobiologischen Wundabstriche im Vorher- Nachher- Vergleich.

Bereits vor Beginn und Durchführung der Studie erfolgte eine Fallzahlberechnung im Institut für Medizinische Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck. Eine Überprüfung der angewandten Tests dieser Arbeit wurde ebenfalls in Kooperation mit dem Institut für Medizinische Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck durchgeführt.

3 Ergebnisse

1. Ergebnisse der Mikrozirkulationsmessung nach CAP- Anwendung

Die CAP- Therapie hat statistisch signifikante Auswirkungen auf die Mikrozirkulation. Auf spontanheilenden Wunden, wie hier beispielhaft an Spalthautentnahmestellen, konnte die Mikrozirkulation nach einmaliger CAP- Anwendung gesteigert werden. Die Sauerstoffsättigung stieg in 2-4mm Gewebstiefe um 5%, der kapilläre Blutfluss zeigte im Vergleich zur Ausgangsmessung eine Zunahme von fast 26%.

Bei repetitiver Anwendung hatten die zweite und dritte CAP-Applikationen keine signifikanten Veränderungen der Sauerstoffsättigung zur Folge. Der postkapilläre venöse Füllungsdruck fiel in 2-4mm Gewebstiefe nach der 3. CAP signifikant um fast 30%. Bei 6-8mm fiel der postkapilläre venöse Füllungsdruck bereits nach der ersten CAP-Anwendung signifikant um 6,7%.

Die Mikrozirkulation von IIa°- Verbrennungswunden wurde durch Anwendung des CAP signifikant beeinflusst - die oberflächliche Sauerstoffsättigung nahm um 5% zu, der postkapilläre venöse Füllungsdruck um 7%, der kapilläre Blutfluss um 35%.

Auf chronischen Wunden wurde die Mikrozirkulation in der Oberfläche und Tiefe der Wunden durch die CAP- Anwendung beeinflusst. Sowohl die Sauerstoffsättigung als auch der kapilläre Blutfluss waren bis zum Ende der Messungen erhöht.

Nach einmaliger CAP- Behandlung konnte die Sauerstoffsättigung in 2-4mm Gewebstiefe signifikant um 12,6% erhöht werden. Der kapilläre Blutfluss nahm um 16,5% nicht signifikant zu, während er in 6-8mm Gewebstiefe signifikant um 22% gesteigert werden konnte.

Die repetitive Anwendung von CAP bewirkte auf chronischen Wunden die signifikante Steigerung der Sauerstoffsättigung pro CAP- Applikation, maximal nahm sie um 16,7% nach der 3. Plasmatherapie zu. Der kapilläre Blutfluss zeigte in der Oberfläche nicht signifikante Steigerungen um 22,56%. In 6-8mm Gewebstiefe stieg der kapilläre Blutfluss nach der ersten und zweiten CAP-Behandlung nicht signifikant. Nach der 3. Anwendung präsentierte sich eine maximale signifikante Steigerung von 17%.

2. Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung

Nach einmaliger Applikation von CAP konnten sowohl auf spontanheilenden als auch auf chronischen Wunden signifikante Keimreduktionen nachgewiesen werden. Unterschiede ließen sich im Keimspektrum feststellen: Spontanheilende Wunden waren vor allem mit grampositiven Kokken, chronische Wunden eher mit gramnegativen Stäbchen besiedelt. Auf

Verbrennungswunden wurden weder vor noch nach der CAP- Anwendung Erreger im Wundabstrich nachgewiesen.

3.1 Patientenkollektiv

Im Zeitraum von November 2015 bis September 2019 wurden insgesamt 100 Patienten in die Studie eingeschlossen. In Tab. 3 werden die Verteilung von Geschlecht, Alter, Größe, Gewicht und BMI aufgeführt.

Kohorte (CAP)	Geschlecht	Ø Alter	Ø Größe	Ø Gewicht	Ø BMI
Einzel Stx	14m, 6w	40,85 ±15,84J	178,05 ±9,60cm	84,84 ±19,90kg	26,83 ±7,27kg/m ²
Repetitiv Stx	14m, 6w	40,8 ±13,97J	175,2 ±8,33cm	81,50 ±19,40kg	26,35 ±5,23kg/m ²
Einzel Verbrennungswunde	16w, 4m	40,35 ±18,82J	177,8 ±10,30cm	85,60 ±21,11kg	26,88 ±5,14kg/m ²
Einzel Chronische Wunde	16m, 4w	66,8 ±10,93J	176,3 ±12,55cm	83,25 ±22,63kg	27,1 ±6,66kg/m ²
Repetitiv Chronische Wunde	17m, 3w	66,55 ±10,97J	177,1 ±8,80cm	88,55 ±19,32kg	27,98 ±4,99kg/m ²

Tabelle 3 - Übersicht des gesamten Patientenkollektivs. Ergebnisse von Geschlechterverteilung, mittlerem Alter, Größe, Gewicht und BMI der einzelnen Kohorten (CAP Einzel- und Repetitiveanwendung auf Spalthautentnahmestellen, CAP Einzelanwendung auf Verbrennungswunden sowie CAP Einzel- und Repetitiveanwendung auf chronischen Wunden).

Zur detaillierten Übersicht werden die Ergebnisse in den einzelnen Kohorten beschrieben.

3.2 Einmalige lokale CAP- Therapie auf spontanheilenden Wunden

Patientenkollektiv

Für den Studienabschnitt der einmaligen lokalen CAP-Therapie auf Spalthautentnahmestellen als Modell spontanheilender Wunden wurden 20 Datensätze statistisch ausgewertet. Geschlechts-, Alters-, Größen- und Gewichtangaben können der Tab. 3 entnommen werden. Im Durchschnitt wurde die Studie $1,75 \pm 0,79$ Tage nach der Spalthauttransplantation durchgeführt. Die Angaben des Dokumentationsbogens sind in Tab. 4 aufgeführt.

Anamnese	Absolut	Relativ
Indikation für Spalthauttransplantation:		
Verbrennung/Verbrühung	7	35%
Selbstintendierte Verbrennungen/ Vereisungen	5	25%
Verletzungen durch Unfälle	4	20%
Defektwunde nach Wundinfektion	2	10%
Wundheilungsstörungen	1	5%
Weichteiltumor	1	5%
Arterielle Hypertonie	3	15%
Keine Erkrankung	17	85%
Medikamente		
β -Blocker	1	5%
β -Blocker + Ca^{2+} Antagonist	1	5%
Ca^{2+} Antagonist	1	5%
Keine Medikamente	17	85%
Nikotinabusus		
Aktiv	14 ($\bar{\text{O}}12,29\text{py}$)	70%
Terminiert	1	5%
Kein Nikotinabusus	5	25%
Gesamtzahl	20	100%

Tabelle 4 - Erkrankungen, Vorerkrankungen und Medikation des Kollektivs mit Spalthautentnahmestellen als spontanheilende Wunden bei CAP- Anwendung.

3.2.1 Ergebnisse der Mikrozirkulationsmessung

Oberflächliche Gewebssauerstoffsättigung

In den ersten 4 Minuten nach der CAP- Anwendung zeigte sich im Vergleich zur Baseline eine signifikante Steigerung der kutanen Sättigung (Abb. 10). Die Sauerstoffsättigung ist in der ersten Messminute um 5% gestiegen ($92,66 \pm 4,76\%$ vs. Baseline $88,21 \pm 6,52\%$, $p < 0,01$). Weitere signifikante Sättigungszunahmen konnten in den nachfolgenden Minuten 2 ($92,40 \pm 4,68\%$, $p < 0,01$), 3 ($92,46 \pm 5,63\%$, $p < 0,01$) und 4 ($91,87 \pm 6,54\%$, $p < 0,05$) gezeigt werden. Bis zur 14. Minute nach der CAP-Anwendung war die Sättigung im Mittel höher als in der Ausgangsmessung. Ab Minute 15 sank sie nicht signifikant unterhalb des Ausgangswertes. Die minimale Sauerstoffsättigung lag in Minute 27 ($86,27 \pm 9,47\%$) ohne statistische Signifikanz vor.

Tiefe Gewebssauerstoffsättigung

In 6-8mm Gewebstiefe lag die Baseline der Sauerstoffsättigung bei $88,76 \pm 3,27\%$. Es zeigten sich keine signifikanten Veränderungen nach einmaliger CAP- Anwendung. Die Sauerstoffsättigung fiel bis zur 30. Messminute auf einen minimalen Wert von $86,52 \pm 4,80\%$ ($p > 0,05$).

Oberflächlicher postkapillärer venöser Füllungsdruck

Der postkapilläre venöse Füllungsdruck zeigte in einer Gewebetiefe von 2-4mm nach einmaliger CAP- Anwendung keine signifikanten Veränderungen. Die Baseline betrug $89,74 \pm 30,08$ AU, innerhalb der 1. Minute nach der Anwendung steigerte sich der postkapilläre venöse Füllungsdruck nicht signifikant auf $90,58 \pm 28,15$ AU. Dies war gleichzeitig der maximale Wert in der gesamten Zeit der Mikrozirkulationsmessung über 30 Minuten.

Tiefer postkapillärer venöser Füllungsdruck

Die Messung des postkapillären venösen Füllungsdruck in einer Gewebetiefe von 6-8mm lag vor der CAP- Anwendung bei $59,39 \pm 12,94$ AU. Nach der Anwendung zeigten sich keine signifikanten Veränderungen. Der postkapilläre venöse Füllungsdruck war in Minute 1 bei $59,16 \pm 13,39$ AU ($p > 0,05$), in Minute 6 bei $59,61 \pm 13,64$ AU ($p > 0,05$), was den Maximalwert darstellt. Minimal war der postkapilläre venöse Füllungsdruck in Minute 29 und 30 bei $57,35 \pm 12,74$ AU ($p > 0,05$).

Oberflächlicher kapillärer Blutfluss

Der kapilläre Blutfluss (Abb. 11) stieg innerhalb der ersten Minute nach der CAP-Therapie um 19,3% ($220,14 \pm 65,91$ AU vs. Baseline $184,52 \pm 56,77$ AU, $p < 0,001$). Der statistisch hoch signifikante Anstieg des Blutflusses hielt über die gesamte Messzeit an. Einen Maximalwert zeigte der Blutfluss

in der 15. Minute ($232,15 \pm 58,90$ AU, $p < 0,001$) nach CAP-Applikation. In Bezug auf die Ausgangsmessung stellt dies eine prozentuale Steigerung von 25,8% dar.

Tiefer kapillärer Blutfluss

In einer Gewebetiefe von 6-8mm zeigten sich keine signifikanten Veränderungen des kapillären Blutflusses nach CAP- Anwendung. Der Baseline- Flow lag bei $256,11 \pm 42,49$ AU, in der 1. Minute nach CAP- Therapie sank der Flow nicht signifikant auf $251,31 \pm 60,85$ AU ($p > 0,05$). Weitere nicht signifikante Blutflussmessungen zeigten unter anderem folgende Werte: Minute 5 $253,52 \pm 54,61$ AU ($p > 0,05$), Minute 10 $250,61 \pm 53,20$ AU ($p > 0,05$), Minute 15 $254,74 \pm 59,75$ AU ($p > 0,05$). Ein maximaler kapillärer Blutfluss wurde in Minute 16 ($262,98 \pm 36,57$ AU, $p > 0,05$) erreicht.

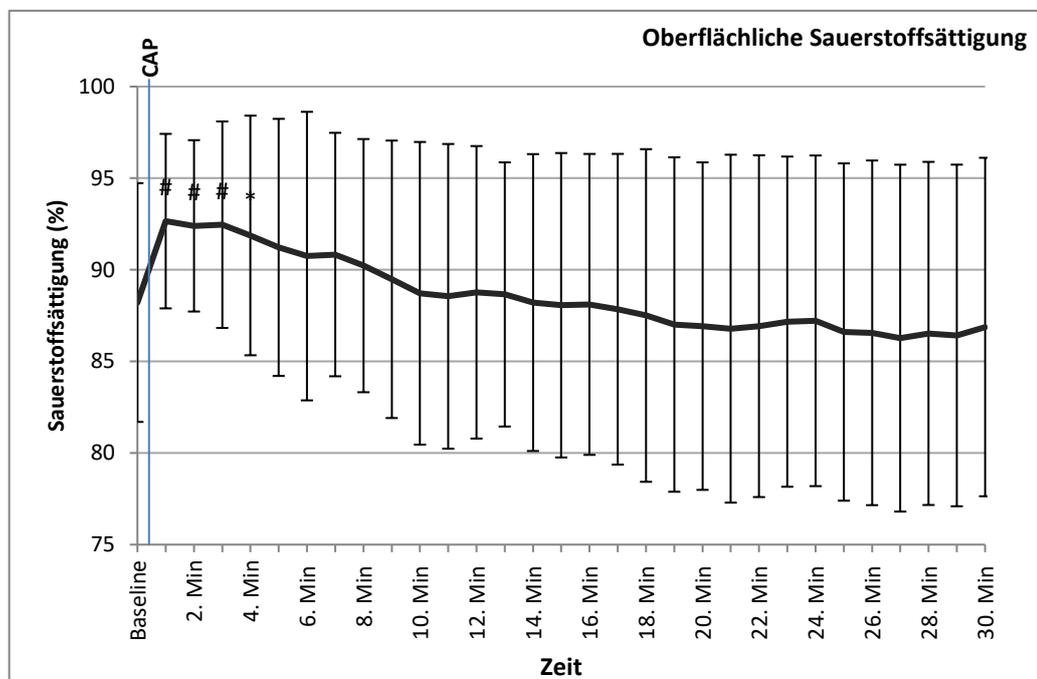


Abbildung 10 - Darstellung der Sauerstoffsättigung vor und nach einmaliger CAP-Anwendung bei Spalthautentnahmestellen in 2-4mm Gewebstiefe. * $p < 0,05$, # $p < 0,01$.

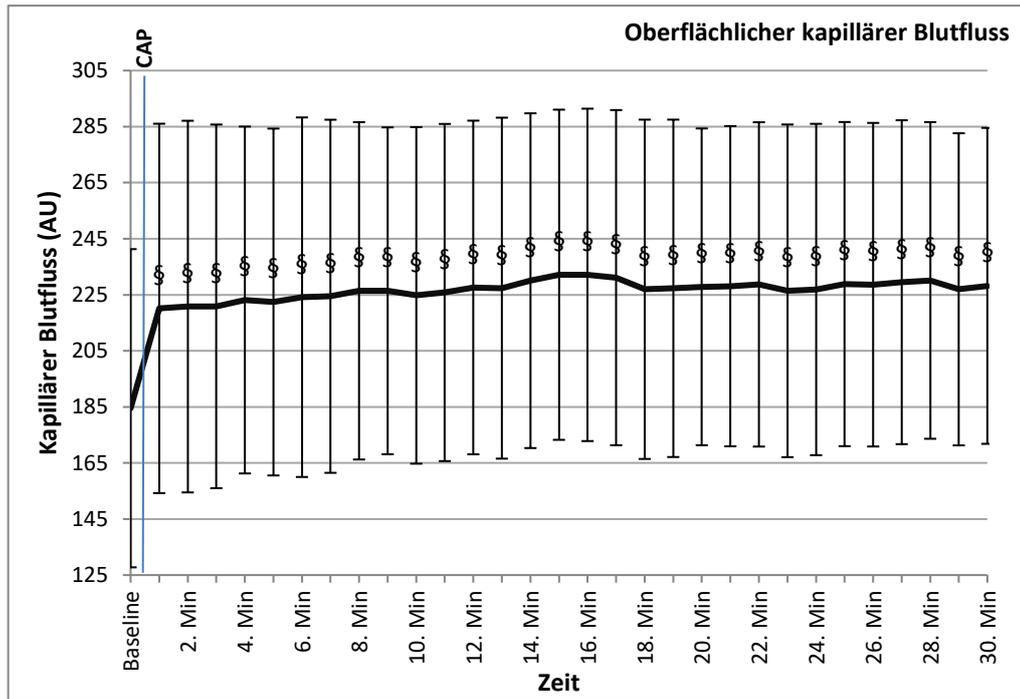


Abbildung 11 - Darstellung des kapillären Blutflusses vor und nach einmaliger CAP-Anwendung bei Spalthautentnahmestellen in 2-4mm Gewebstiefe. $p < 0,001$.

3.2.2 Mikrobiologische Ergebnisse

Mikrobiologisch konnte eine signifikante Keimreduktion gezeigt werden ($p < 0,01$; Abb. 12). Vor der CAP-Anwendung waren 13 Wunden mit grampositiven Kokken besiedelt (Tab. 5). Nach der CAP-Anwendung waren 3 Wunden mit grampositiven Kokken besiedelt ($p = 0,002$). Weiterhin wurden auf einer Wunde Pilze positiv nachgewiesen. Nach der CAP-Behandlung waren diese nicht mehr nachweisbar.

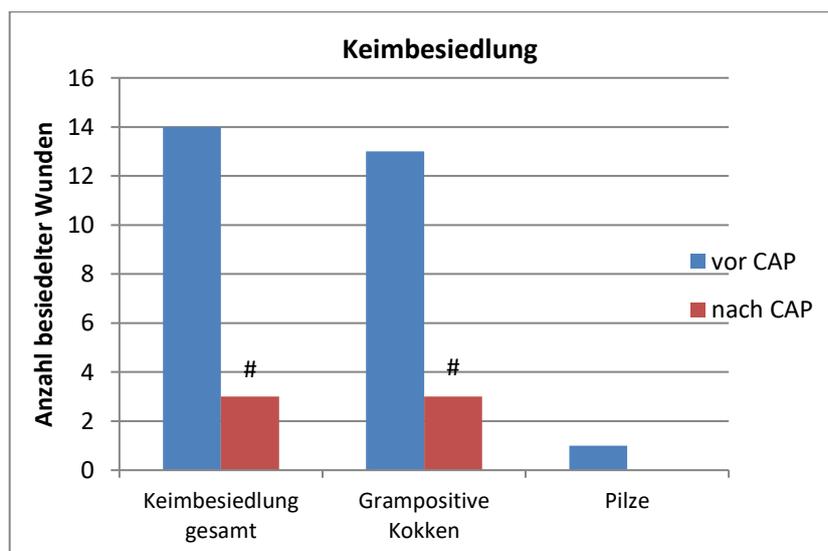


Abbildung 12 - Anzahl der spontanheilenden Wunden mit besiedelten Keimen vor und nach CAP-Anwendung. # $p < 0,01$

Keim	Vor CAP	Nach CAP
Staphylococcus aureus	4	1
Staphylococcus epidermidis	3	2
Staphylococcus capitis	1	0
Staphylococcus haemolyticus	1	0
Staphylococcus wanneri	1	0
Enterococcus faecalis	2	0
Propionibacterium acnes	1	0
Candida albicans	1	0
Gesamtzahl	14	3

Tabelle 5 - Verteilung der Keimspektren von spontanheilenden Wunden sowie deren Gramfärbung und Verteilungen vor/ nach CAP.

3.3 Repetitive lokale CAP- Therapie auf spontanheilenden Wunden

Patientenkollektiv

Für den Studienabschnitt der repetitiven lokalen CAP-Therapie auf Spalthautentnahmestellen als Modell spontanheilender Wunden wurden 20 Datensätze statistisch ausgewertet. Geschlechts-, Alters-, Größen- und Gewichtangaben können der Tab. 3 entnommen werden. Im Durchschnitt wurde die Studie $2,2 \pm 0,7$ Tage nach der Spalthautentnahme durchgeführt. Die Angaben des Dokumentationsbogens sind in mit absoluten und relativen Verteilungen Tab. 6 aufgelistet.

Anamnese	Absolut	Relativ
Indikation für Spalthauttransplantation:		
Verletzungen durch Unfälle	8	40%
Verbrennung/Verbrühung	7	35%
Defektwunde nach Wundinfektion	2	10%
Defektwunde nach Tumorresektion	2	10%
Sonstige	1	5%
Erkrankung		
Arterielle Hypertonie	3	15%
Arterielle Hypertonie + KHK + pAVK + CVI	1	5%
Keine Erkrankung	16	80%
Medikamente		
β-Blocker + ASS	2	10%
β-Blocker + Marcumar	1	5%
β-Blocker + Ca ²⁺ Antagonist	1	5%
Keine Medikamente	16	80%
Nikotinabusus		
Aktiv	12 (Ø17,83py)	60%
terminiert	1	5%
Kein Nikotinabusus	7	35%
Gesamt	20	100%

Tabelle 6 - Erkrankungen, Vorerkrankungen und Medikation des Kollektivs mit Spalthautentnahmestellen als spontanheilende Wunden bei repetitiver CAP-Anwendung.

3.3.1 Ergebnisse der Mikrozirkulationsmessung

Oberflächliche Gewebssauerstoffsättigung

Die oberflächliche Sauerstoffsättigung (Abb. 13) der Spalthautentnahmestellen stieg in der ersten Minute signifikant nach CAP-Anwendung um 9% ($91,26 \pm 7,25\%$ vs. Baseline $83,68 \pm 12,94\%$, $p < 0,05$). Auch die folgenden fünf Minuten zeigten signifikante Erhöhungen (2. Minute $90,14 \pm 7,63\%$; 3. Minute $89,73 \pm 7,71\%$; 4. Minute $89,43 \pm 7,66\%$; 5. Minute $88,53 \pm 8,40\%$, $p < 0,05$). Die Sauerstoffsättigung hielt sich in den folgenden Minuten durchschnittlich bei rund 88%. In Minute 10 wurde eine erneute Signifikanz im Vergleich zum Ausgangswert vor der CAP- Anwendung verzeichnet ($88,35 \pm 8,07\%$, $p < 0,05$). Nach der zweiten Anwendung des CAP fiel die Sauerstoffsättigung nicht signifikant (Minute 11 $88,11 \pm 8,26\%$, $p > 0,05$), die dann bis zur 20. Minute unterhalb der Baseline auf $83,11 \pm 11,78\%$ sank. Nach erneuter (drittmaliger) CAP- Anwendung stieg die Sauerstoffsättigung nicht signifikant um 5%, in Bezug auf Minute 20 (21. Minute $87,44 \pm$

8,52%, $p > 0,05$). Weitere 11 Minuten war die Sättigung auf erhöhtem/gleichem Niveau wie die der Ausgangsmessung. Ab der 32. Minute nahm die oberflächliche Sauerstoffsättigung nicht signifikant bis auf einen minimalen Wert von $82,13 \pm 9,83\%$ in Minute 40 ab.

Tiefe Gewebssauerstoffsättigung

Die Sauerstoffsättigung bei 6-8mm Gewebstiefe zeigte keine signifikanten Veränderungen nach dreimaliger CAP- Anwendung. Die Ausgangssättigung lag bei $89,62 \pm 5,39\%$. Nach erster CAP- Anwendung stieg sie nicht signifikant auf $90,23 \pm 3,51\%$ innerhalb der ersten Minute, nach der zweiten CAP- Anwendung lag sie in der ersten Minute bei $89,63 \pm 3,30\%$, nach der dritten Anwendung lag sie bei $89,77 \pm 3,60\%$ ($p > 0,05$). Minimal war die Sauerstoffsättigung in der letzten Messminute nach dreifacher CAP- Anwendung bei $88,04 \pm 4,67\%$ ($p > 0,05$).

Oberflächlicher postkapillärer venöser Füllungsdruck

Vor der CAP- Anwendung betrug der postkapilläre venöse Füllungsdruck $31,34 \pm 18,70$ AU (Abb. 14). Nach der ersten CAP-Therapie sank der relative Hämoglobingehalt in der ersten Minute nicht signifikant um 4,4% ($29,95 \pm 17,01$ AU, $p > 0,05$). Im weiteren Verlauf der ersten Messzeit zeigten sich keine wesentlichen Veränderungen. In Minute 10 lag der durchschnittliche postkapilläre venöse Füllungsdruck bei $28,98 \pm 17,65$ AU ($p > 0,05$). Nachdem das CAP ein zweites Mal angewandt wurde, fiel der postkapilläre venöse Füllungsdruck in Minute 11 auf $28,07 \pm 11,84$ AU ($p > 0,05$). Über die Minuten 12 - 18 konnten keine signifikanten Änderungen ermittelt werden. Die Werte hielten sich um durchschnittlich $27,77 \pm 12,61$ AU ($p > 0,05$). 9 und 10 Minuten nach der zweiten CAP- Anwendung zeigte der postkapilläre venöse Füllungsdruck statistisch signifikante Veränderungen (Minute 19: $27,41 \pm 13,07$ AU; Minute 20: $27,40 \pm 13,04$ AU vs. Baseline $31,34 \pm 18,70$ AU, $p < 0,05$). Im Vergleich zur Ausgangsmessung änderte sich der postkapilläre venöse Füllungsdruck in der 20. Messminute um 12,57%. Auch nach der dritten CAP-Anwendung nahm der postkapilläre venöse Füllungsdruck geringere Werte an (Minute 21: $25,78 \pm 11,50$ AU, $p < 0,05$). Während der gesamten weiteren Messzeit nahm dieser Messparameter stetig ab bis er einen minimalen Wert in Minute 40 erreichte ($24,17 \pm 11,74$ AU, $p < 0,05$). Hier wurden in allen Messminuten signifikante Ergebnisse erzielt. Insgesamt sank der Parameter für den postkapillären venösen Füllungsdruck bis auf 77,13% des Ausgangswertes.

Tiefer postkapillärer venöser Füllungsdruck

Es zeigte sich bei repetitiver CAP- Anwendung eine signifikante Abnahme des postkapillären venösen Füllungsdrucks nach der ersten CAP- Anwendung innerhalb der ersten sechs Messminuten (1. Minute $72,84 \pm 22,12$ AU vs. Baseline $77,51 \pm 24,85$ AU, $p < 0,05$; Abb. 15). Insgesamt war der

postkapilläre venöse Füllungsdruck im Vergleich zu den Ausgangswerten nach den drei CAP-Anwendungen erniedrigt.

Oberflächlicher kapillärer Blutfluss

Es zeigten sich keine signifikanten Veränderungen des kapillären Blutflusses nach repetitiver CAP-Therapie. Nach der ersten CAP- Anwendung sank der kapilläre Blutfluss nicht signifikant um 1,4% ($241,67 \pm 65,78$ AU vs. Baseline $245,10 \pm 61,80$ AU, $p > 0,05$). In den folgenden 9 Messminuten nahm der kapilläre Blutfluss Werte von minimal $242,52 \pm 66,12$ AU (Minute 4, $p > 0,05$) bis maximal $246,80 \pm 65,77$ AU (Minute 10, $p > 0,05$) an. Nachdem CAP ein zweites Mal angewandt wurde, betrug der kapilläre Blutfluss in der 11. Messminute $244,10 \pm 56,33$ AU ($p > 0,05$). Bis zur 14. Minute sank er auf $239,62 \pm 57,70$ AU ($p > 0,05$), stieg bis zur 16. Minute auf $246,26 \pm 56,34$ AU ($p > 0,05$) und fiel dann wieder bis zur 20. Messminute auf $242,91 \pm 57,03$ AU ($p > 0,05$).

Nach der dritten Plasma- Therapie stieg der Blutfluss um 1,75% bezüglich der Ausgangsmessung vor CAP- Anwendungen (Minute 21 $249,39 \pm 55,39$ AU, $p > 0,05$). Auch in der 22. Messminute zeigte der Blutfluss einen höheren Wert ($247,28 \pm 56,63$ AU, $p > 0,05$). Ab der 23. Minute wurde der Blutfluss bis zur letzten Messminute geringer (Minute 40: $232,03 \pm 64,98$ AU, $p > 0,05$). Bis zur 34. Minute war der Blutfluss im Mittel bei $242,07 \pm 64,88$ AU ($p > 0,05$), danach nahm er Werte von rund $235,65 \pm 64,07$ AU ($p > 0,05$) an.

Tiefer kapillärer Blutfluss

Nach repetitiver CAP- Anwendung zeigten sich keine signifikanten Veränderungen des Blutflusses in einer Gewebetiefe von 6-8mm. Die Ausgangsmessung lag bei $264,05 \pm 34,20$ AU. Nach der ersten CAP- Anwendung war der kapilläre Blutfluss unverändert $265,04 \pm 34,46$ AU in der ersten Minute ($p > 0,05$). Nach der zweiten CAP- Anwendung sank der kapilläre Blutfluss nicht signifikant in der ersten Messminute auf $257,01 \pm 41,65$ AU ($p > 0,05$). Nach der dritten CAP- Anwendung stieg der kapilläre Blutfluss nicht signifikant auf $269,63 \pm 37,97$ AU ($p > 0,05$). Ein maximaler Blutfluss wurde in Minute 20 nach der 3. CAP- Anwendung erreicht ($272,41 \pm 41,52$ AU, $p > 0,05$).

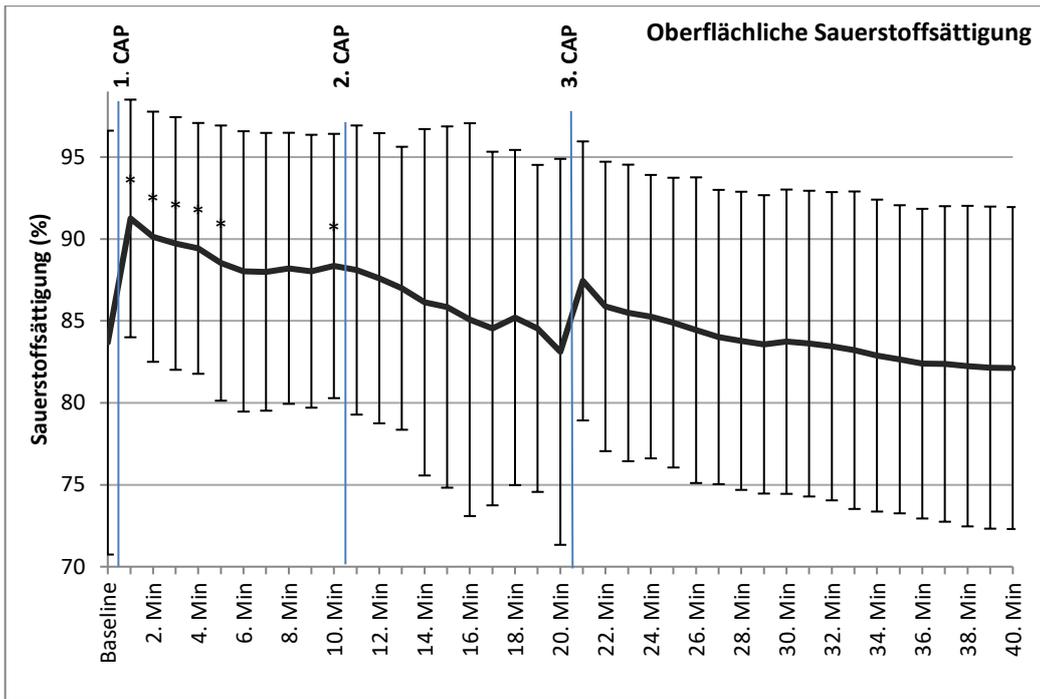


Abbildung 13 - Darstellung der Sauerstoffsättigung bei Spalthautentnahmestellen in 2-4mm Gewebstiefe bei repetitiver CAP- Anwendung. * $p < 0,05$.

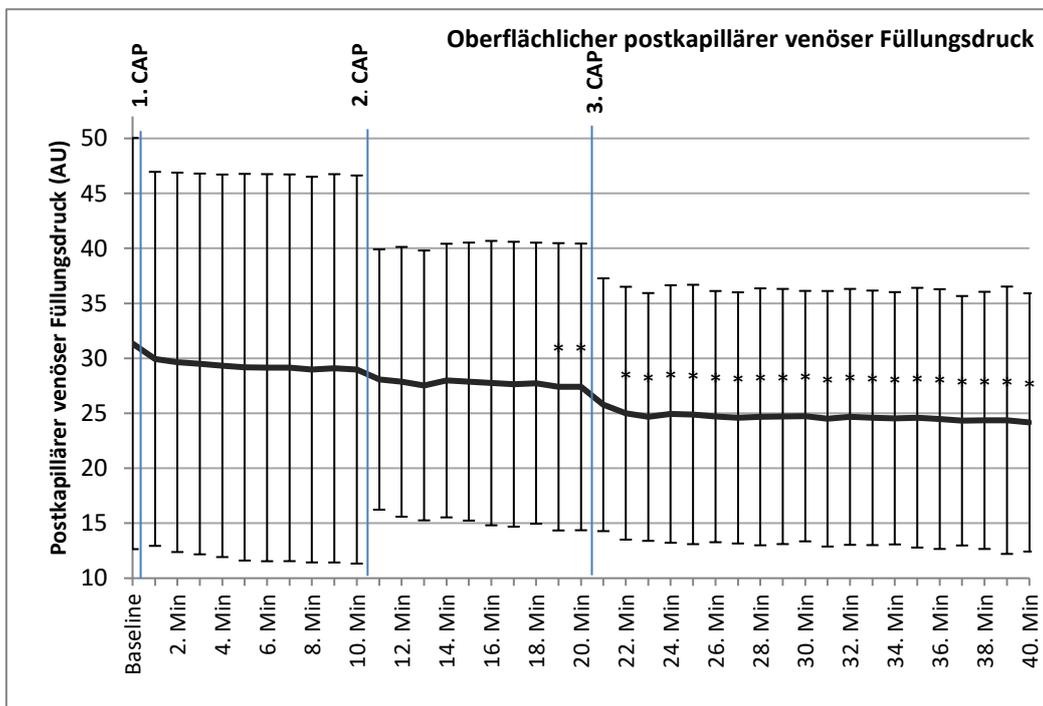


Abbildung 14 - Darstellung des postkapillären venösen Füllungsdrucks bei Spalthautentnahmestellen in 2-4mm Gewebstiefe bei repetitiver CAP- Anwendung. * $p < 0,05$.

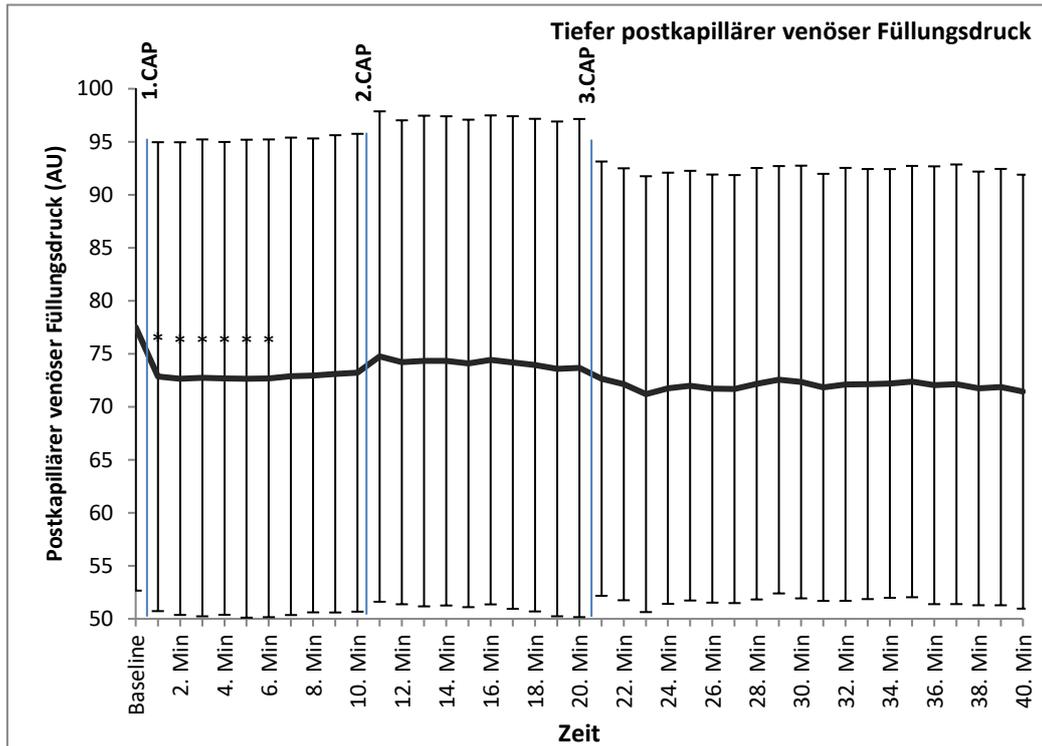


Abbildung 15 - Darstellung des postkapillären venösen Füllungsdrucks bei Spalthautentnahmestellen in 6-8mm Gewebstiefe bei repetitiver CAP- Anwendung. * $p < 0,05$.

3.3.2 Mikrobiologische Ergebnisse

Bei der repetitiven Anwendung des CAP konnten signifikante Keimreduktionen auf den Spalthautentnahmestellen erreicht werden ($p < 0,01$, Abb. 16). Der erste Abstrich zeigte bei insgesamt 15 Wunden eine Besiedlung - größtenteils mit grampositiven Kokken (11 Wunden = 73,3%), folgend von gramnegativen Stäbchen (3 Wunden). Eine Wunde war mit grampositiven Stäbchen besiedelt. Nach der dreifachen CAP- Anwendung waren auf 4 Wunden grampositive Kokken ($p < 0,05$), auf einer Wunde gramnegative Stäbchen und auf einer weiteren grampositive Stäbchen nachweisbar. Eine genaue Verteilung der Keimspektren kann der Tab. 7 entnommen werden.

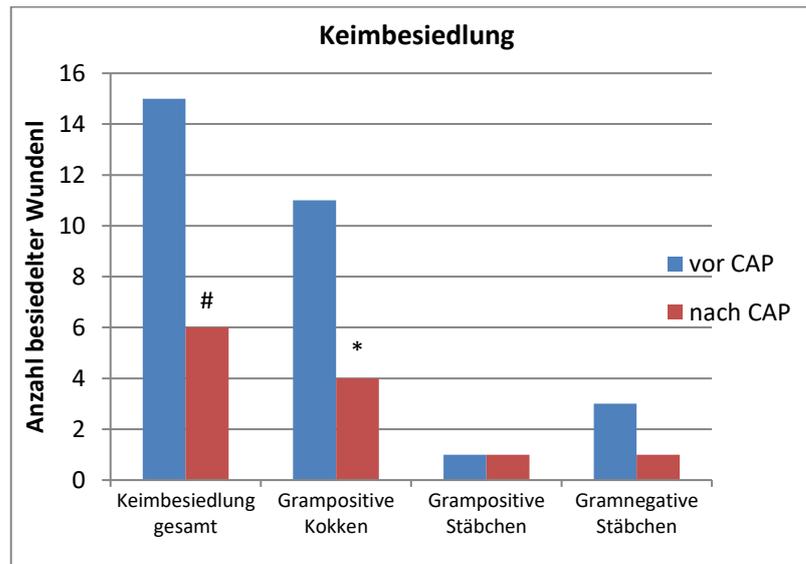


Abbildung 16 - Anzahl der spontanheilenden Wunden mit besiedelten Keimen bei repetitiver CAP-Anwendung. * $p < 0,05$; # $p < 0,01$.

Keim	Vor CAP	Nach CAP
Staphylococcus aureus	2	1
Staphylococcus epidermidis	5	2
Staphylococcus capitis	1	0
Staphylococcus haemolyticus	2	1
Enterococcus faecalis	1	0
Clostridium perfringens	1	1
Pseudomonas aeruginosa	1	1
Morganella morganii	1	0
Leclercia adecarobxylata	1	0
Gesamt	15	6

Tabelle 7 - Verteilung der Keimspektren von spontanheilenden Wunden sowie deren Gramfärbung und Verteilungen vor/ nach repetitivem CAP.

3.4 Einmalige lokale CAP-Therapie auf IIa°-Verbrennungswunden

Patientenkollektiv

Es nahmen 20 Patienten mit akuten IIa°-Verbrennungen teil. Die Verbrennungsoberfläche betrug im Mittel $3,13 \pm 3,26\%$. Die größte lag bei 15%, die kleinste bei 0,5%. Die CAP-Behandlung und Mikrozirkulationsmessung der Verbrennungswunden fand $1,30 \pm 0,47$ Tage nach dem Verbrennungsunfall statt. Weitere Dokumentationsangaben sind in Tab. 8 aufgeführt.

Anamnese	Absolut	Relativ
Verbrennungsursache:		
Heißes Wasser	8	40%
Heißes Öl/ Fett	6	30%
Flamme	3	15%
Kontaktverbrennung	3	15%
Arterielle Hypertonie	1	5%
KHK	1	5%
Keine chronische Erkrankung	18	90%
Medikamente		
Marcumar	1	5%
Keine Medikamente	19	95%
Nikotinabusus	9 (Ø14,56py)	45%
Kein Nikotinabusus	11	55%
Gesamtzahl	20	100%

Tabelle 8 - Erkrankungen, Vorerkrankungen und Medikation des Kollektivs mit IIa°-Verbrennungswunden bei einmaliger CAP-Anwendung.

3.4.1 Ergebnisse der Mikrozirkulationsmessung

Oberflächliche Gewebssauerstoffsättigung

In den ersten vier Minuten nach der Anwendung des kalten atmosphärischen Plasmas konnte eine signifikante Steigerung der kutanen Sättigung (Abb. 17) erreicht werden. Die Sättigung ist in der ersten Messminute um 5,38% gestiegen ($93,23 \pm 3,04\%$ vs. Baseline $88,47 \pm 8,07\%$, $p < 0,05$). Weitere signifikante Ergebnisse konnten in den nachfolgenden Minuten 2 ($92,80 \pm 4,44\%$, $p < 0,01$), 3 ($91,78 \pm 7,16\%$, $p < 0,01$) und 4 ($91,29 \pm 8,61\%$, $p < 0,05$) gezeigt werden. Bis zur letzten Messminute war die kutane Sauerstoffsättigung im Vergleich zur Ausgangsmessung erhöht.

Tiefe Gewebssauerstoffsättigung

Nach einmaliger CAP- Anwendung wurde die Sauerstoffsättigung in der Tiefe von 6-8mm nicht signifikant gesteigert (1. Minute $81,11 \pm 16,12\%$ vs. Baseline $77,70 \pm 16,90\%$, $p>0,05$). Dies ist eine maximale Steigerung von 4,39%. Während der gesamten 30minütigen Messzeit war die Sauerstoffsättigung im Vergleich zur Ausgangsmessung nicht signifikant erhöht (Minute 30 $79,44 \pm 17,56\%$, $p>0,05$).

Oberflächlicher postkapillärer venöser Füllungsdruck

Der postkapilläre Füllungsdruck lag in der Ausgangsmessung bei $83,60 \pm 16,25$ AU (Abb. 18). Nach der Anwendung des kalten atmosphärischen Plasmas stieg er in der ersten Messminute zunächst nicht signifikant um 6,64% ($89,15 \pm 12,56$ AU, $p>0,05$). Die folgenden sechs Minuten zeigten signifikante Steigerungen. Maximal war der postkapilläre venöse Füllungsdruck in Minute 9 bei $89,62 \pm 14,40$ AU, $p<0,05$, was eine Zunahme von 7,2% darstellt. Insgesamt war der postkapilläre venöse Füllungsdruck im Vergleich zur Baseline bis zur letzten Messzeit erhöht.

Tiefer postkapillärer venöser Füllungsdruck

In einer Gewebstiefe von 6-8mm war der postkapilläre venöse Füllungsdruck im Vergleich zur Ausgangsmessung über die gesamte Messzeit nicht signifikant erhöht (1. Minute $62,87 \pm 21,25$ AU vs. Baseline $60,35 \pm 25,48$ AU, $p>0,05$). Ein maximaler Wert war in Minute 16 zu verzeichnen ($66,33 \pm 22,53$ AU, $p>0,05$). Dies stellt eine prozentuale Zunahme von 9,9% dar.

Oberflächlicher kapillärer Blutfluss

Der kapilläre Blutfluss (Abb. 19) zeigte bei den IIa°-Verbrennungswunden Ausgangswerte von $126,76 \pm 66,26$ AU. Nach der CAP-Anwendung stieg der Blutfluss in der ersten Messminute nicht signifikant auf $150,98 \pm 79,71$ AU, was eine prozentuale Zunahme um 19,11% ausmacht. In der zweiten Minute nahm der kapilläre Blutfluss signifikant um 23,4% zu ($156,42 \pm 80,12$ AU, $p<0,05$). Die Messminuten sechs bis neun sowie ab Minute 14 bis 30 zeigten hochsignifikante Steigerungen des kapillären Blutflusses in der oberflächlichen Wundgrund ($p<0,01$). Eine maximale Zunahme zeigte Minute 15 ($172,33 \pm 78,40$ AU, $p<0,01$) mit einer prozentualen Steigerung von 35,95%. Insgesamt waren die Messwerte für den kapillären Blutfluss nach der CAP- Anwendung über 30 Minuten erhöht.

Tiefer kapillärer Blutfluss

Es zeigten sich keine signifikanten Veränderungen des kapillären Blutflusses in einer Gewebstiefe von 6-8mm nach der CAP- Anwendung (1. Minute $223,32 \pm 51,70$ AU vs. Baseline $222,91 \pm 54,17$ AU, $p>0,05$). Nicht signifikante Steigerungen des Blutflusses waren während der gesamten Messzeit zu beobachten, ein maximaler Blutfluss wurde in Minute 30 ($237,19 \pm 48,32$ AU, $p>0,05$) erreicht. Dies stellt eine Steigerung von 6,41% dar.

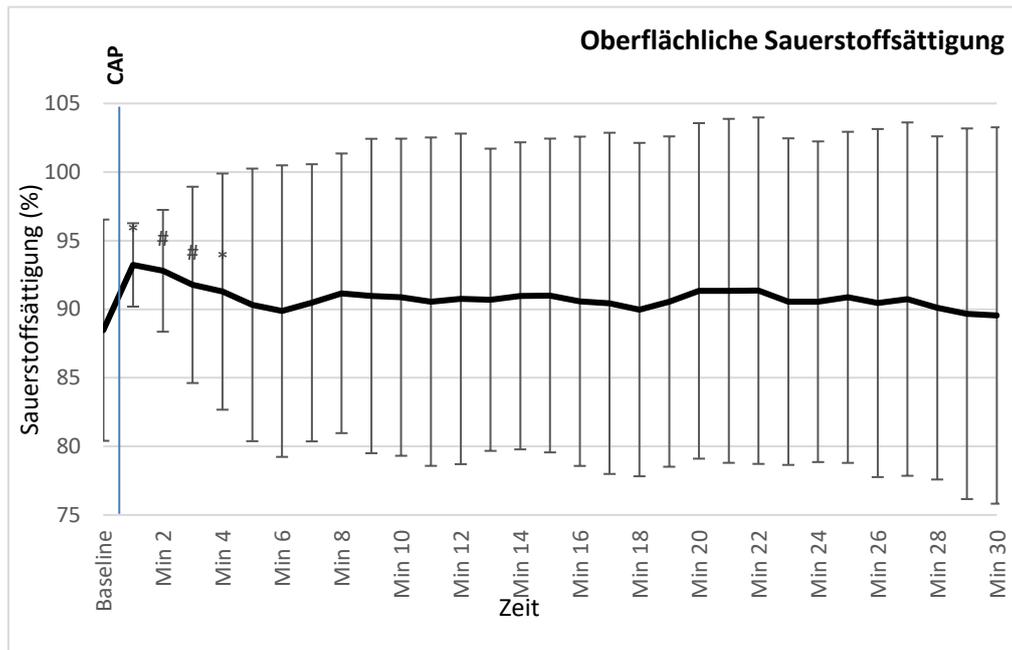


Abbildung 17 - Darstellung der Sauerstoffsättigung vor und nach einmaliger CAP-Anwendung bei Ila°-Verbrennungswunden in 2-4mm Gewebstiefe von. * $p<0,05$; # $p<0,01$.

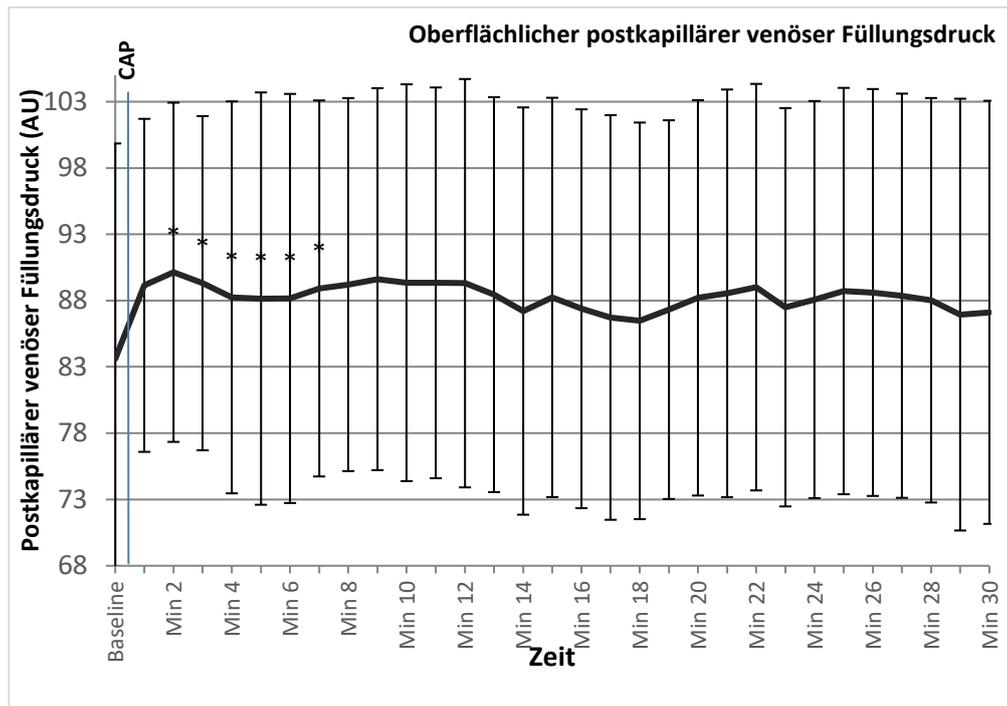


Abbildung 18 - Darstellung des postkapillären venösen Füllungsdrucks vor und nach einmaliger CAP-Anwendung bei IIa°-Verbrennungswunden in 2-4mm Gewebstiefe. * $p < 0,05$.

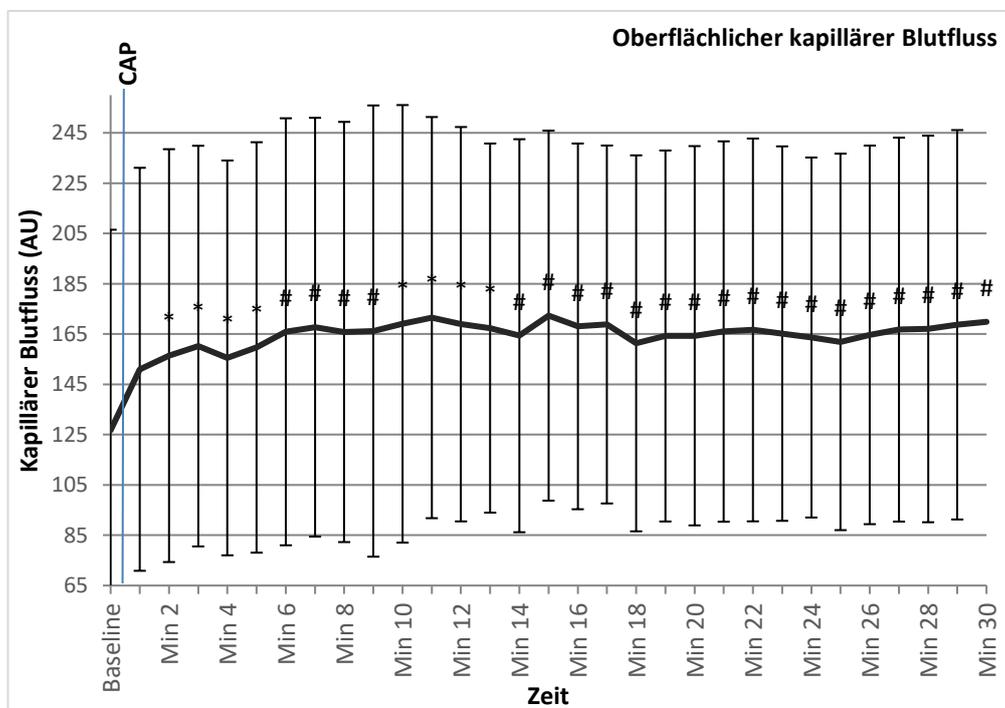


Abbildung 19 - Darstellung des kapillären Blutflusses bei IIa°-Verbrennungswunden vor und nach einmaliger CAP-Anwendung in 2-4mm Gewebstiefe bei einmaliger CAP-Anwendung. * $p < 0,05$; # $p < 0,01$.

3.4.2 Mikrobiologische Ergebnisse

Von allen Wunden wurde vor und nach der Therapie mit CAP ein mikrobiologischer Wundabstrich genommen. Dabei wurden weder vor noch nach der CAP- Anwendung Keime nachgewiesen.

3.5 Einmalige lokale CAP- Therapie auf chronischen Wunden

Patientenkollektiv

Es wurden 20 Datensätze von Patienten mit chronischen Wunden ausgewertet. Darunter befanden sich 6 Patienten mit pAVK, 8 Patienten mit Diabetes mellitus und 6 Patienten mit einer Kombination aus pAVK und Diabetes mellitus. In dem Patientengut mit Diabetes mellitus fand sich ein mittlerer HbA1c von $6,98 \pm 1,35\%$. Zudem wurde in der Dokumentation der insulinabhängige vom nicht insulinabhängigen Diabetes mellitus unterschieden (Tab 9). Nach der Wundklassifikation nach Wagner/ Armstrong waren die mehrheitlichen Wunden oberflächlich (Grad 1), nur vier zeigten Defekte bis zur Sehnen- und Kapsel Ebene (Grad 2).

Die Untersuchungen des ABI ergaben einen durchschnittlichen Quotienten von $0,89 \pm 0,32$, der als Hinweis auf das Vorliegen einer pAVK gedeutet wird. Beim Neuropathiescore (MDNS) wurden $6,11 \pm 4,41$ Punkte über die Gesamtheit ermittelt, d.h. es lag im Durchschnitt keine bis leichte Neuropathie vor. Die Verteilung der Schweregrade ist in Tab. 10 ersichtlich. Weitere Ergebnisse der Dokumentationsdaten wie Nebenerkrankungen, Medikamentenanamnese und Nikotinabusus sind der Tab. 10 zu entnehmen.

Diabetes mellitus	Insulinpflichtig	Nicht Insulinpflichtig	Absolut	Relativ
Typ 1	3	0	3	21,4%
Typ 2	7	4	11	78,6%

Tabelle 9 - Anzahl der insulinabhängigen und insulinunabhängigen Diabetes mellitus - Patienten der Kohorte chronische Wunden bei einmaliger CAP- Anwendung.

Anamnese	Absolut	Relativ
Diabetes mellitus	14	70%
Arterielle Hypertonie	17	80%
KHK	9	45%
pAVK	12	60%
Medikamente		
ASS	11	55%
Clopidogrel	3	15%
Marcumar	1	5%
β- Blocker	4	20%
Ca ²⁺ Antagonist	4	20%
Medikamentenanamnese unbekannt	5	25%
Neuropathie anhand MDNS		
Keine Neuropathie	11	55%
Milde Neuropathie	6	30%
Moderate Neuropathie	3	15%
Schwere Neuropathie	0	
Nikotinabusus		
Aktiv	5 (Ø34,4py)	25%
Terminiert	4	20%
Kein Nikotinabusus	11	55%
Gesamtzahl	20	100%

Tabelle 10 - Erkrankungen, Vorerkrankungen und Medikation des Kollektivs einmalige CAP- Anwendung bei chronischen Wunden.

3.5.1 Ergebnisse der Mikrozirkulationsmessung

Oberflächliche Gewebssauerstoffsättigung

In der ersten Minute nach der CAP-Anwendung konnte die Sauerstoffsättigung signifikant um maximal 12,63% gesteigert werden ($70,28 \pm 25,49\%$ vs. Baseline $62,40 \pm 27,03\%$, $p < 0,01$; Abb. 20). Die signifikante Erhöhung der Sauerstoffsättigung blieb über die ersten sechs Minuten nach der Therapie (Minute 2: $69,78 \pm 26,29\%$, $p < 0,01$; Minute 3: $69,10 \pm 26,61\%$, $p < 0,01$; Minute 4: $68,66 \pm 25,95\%$, $p < 0,05$; Minute 5: $67,75 \pm 26,13\%$, $p < 0,05$, Minute 6: $67,47 \pm 26,14\%$, $p < 0,05$). Insgesamt war die Sauerstoffsättigung im Vergleich zur Ausgangsmessung über die gesamte Messzeit von 30 Minuten erhöht.

Tiefe Gewebssauerstoffsättigung

Nach einmaliger CAP- Anwendung zeigten sich keine signifikanten Veränderungen der Sauerstoffsättigung in 6-8mm Gewebstiefe (Baseline $62,02 \pm 30,57\%$, 1. Minute $62,08 \pm 27,84\%$, $p>0,05$). Sie stieg in den darauffolgenden Minuten an, eine maximale Sauerstoffsättigung wurde in Minute 6 erreicht $63,93 \pm 26,65\%$, $p>0,05$. Minimal war sie in Minute 22 ($59,78 \pm 25,98\%$, $p>0,05$).

Oberflächlicher postkapillärer venöser Füllungsdruck

In der Gewebstiefe von 2-4mm wurde der postkapilläre venöse Füllungsdruck nach einmaliger CAP- Anwendung nicht signifikant beeinflusst. Die Ausgangsmessung lag bei $68,33 \pm 27,21$ AU, innerhalb der ersten Minute nach Anwendung verhielt er sich unverändert ($68,32 \pm 23,91$ AU, $p>0,05$). Insgesamt schwankte der Füllungsdruck zwischen einem Maximalwert in Minute 4 $68,62 \pm 24,03$ AU und einem Minimalwert $66,66 \pm 21,45$ AU in Minute 10, $p>0,05$.

Tiefer postkapillärer venöser Füllungsdruck

Auch in tieferen Gewebsschichten zeigte der postkapilläre venöse Füllungsdruck nach einmaliger CAP- Behandlung auf chronischen Wunden keine signifikanten Veränderungen. Die Ausgangsmessung lag bei $51,56 \pm 15,55$ AU. Es waren ansteigende Werte des postkapillären venösen Füllungsdrucks ab Minute 1 ($52,88 \pm 15,56$ AU, $p>0,05$) bis zu einem Maximum in Minute 29 ($57,31 \pm 16,50$ AU, $p>0,05$) zu beobachten, was eine prozentuale Steigerung von 11,15% ergibt.

Oberflächlicher kapillärer Blutfluss

Es zeigten sich keine signifikanten Veränderungen. Der kapilläre Blutfluss lag vor der CAP- Anwendung bei $90,97 \pm 79,60$ AU. Zunächst sank er innerhalb der ersten Minute nicht signifikant um 8,9% auf ein minimales Niveau von $83,54 \pm 66,17$ AU, $p>0,05$. Bis zur 5. Minute stieg er auf $91,00 \pm 75,40$ AU, bis zur 10. Minute auf $94,31 \pm 80,83$ AU, nahm bis zur 15. Minute auf $100,79 \pm 83,99$ AU zu, $p>0,05$. Die Tendenz war über den Verlauf steigend, der maximale kapilläre Blutfluss wurde in der 18. Minute ($105,97 \pm 92,33$ AU, Minute, $p>0,05$) erreicht, was eine prozentuale Steigerung von 16,49%. In Minute 25 lag der Blutfluss gemittelt bei $101,96 \pm 85,16$, in Minute 30 bei $102,37 \pm 83,61$.

Tiefer kapillärer Blutfluss

Der kapilläre Blutfluss lag vor der CAP- Anwendung bei $160,57 \pm 96,68$ AU (Abb. 21). Er war während der gesamten Messzeit erhöht. Ab der 11. Minute ($179,75 \pm 104,19$ AU, $p<0,05$) war der kapilläre Blutfluss signifikant gesteigert. Ein maximaler Blutfluss wurde in Minute 27 ($196,28 \pm 111,94$ AU, $p<0,01$) erreicht, was eine maximale prozentuale Steigerung von 22,24% ausmacht. In der letzten

Messminute (30. Minute $192,65 \pm 99,81$ AU) war der Blutfluss im Vergleich zur Baseline $19,97\%$ erhöht.

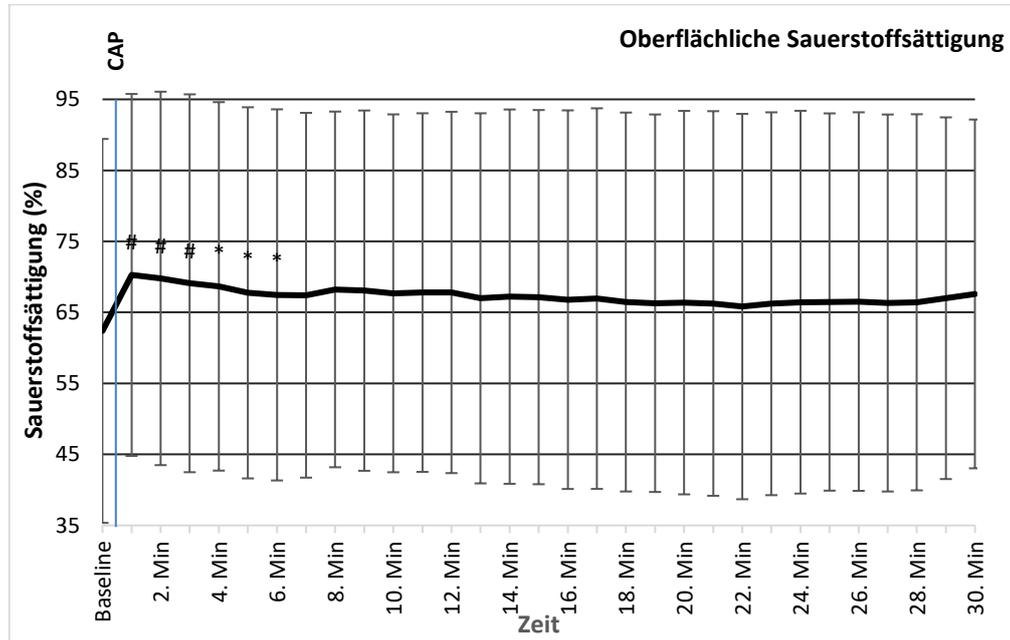


Abbildung 20 - Darstellung der Sauerstoffsättigung bei chronischen Wunden in 2-4mm Gewebstiefe bei einmaliger CAP- Anwendung. * $p < 0,05$, # $p < 0,01$.

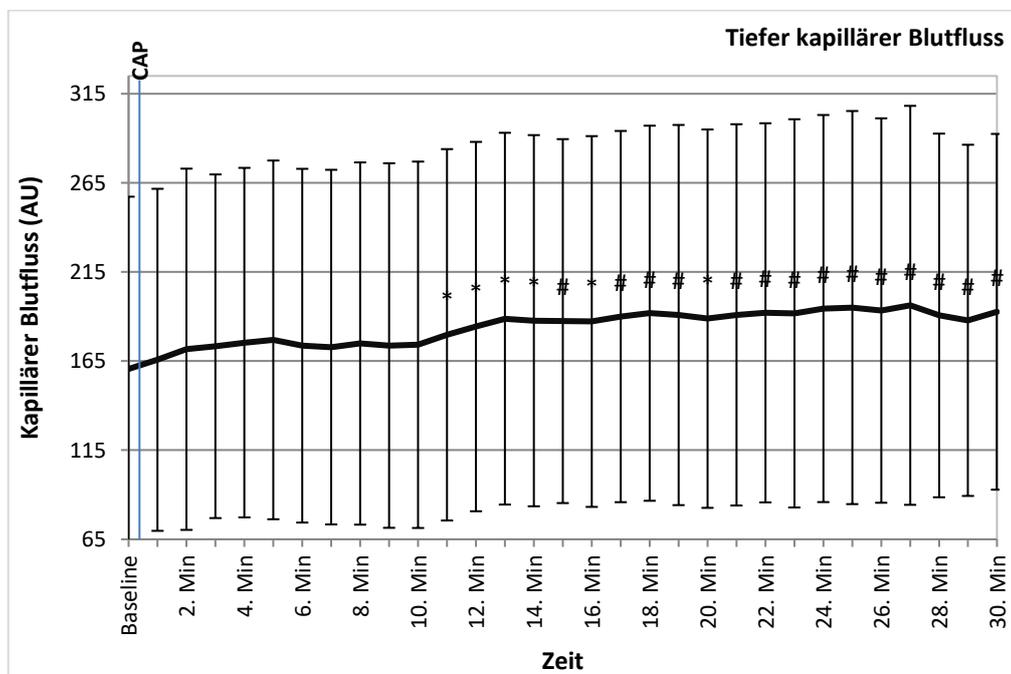


Abbildung 21 - Darstellung des kapillären Blutflusses bei chronischen Wunden in 6-8mm Gewebstiefe bei einmaliger CAP- Anwendung. * $p < 0,05$; # $p < 0,01$.

3.5.2 Mikrobiologische Ergebnisse

Von den chronischen Wunden wurden vor und nach der CAP- Anwendung Wundabstriche entnommen. Die Behandlung zeigte eine hoch signifikante Keimreduktion. Insgesamt waren 20 positive Wundabstriche vor der CAP-Anwendung zu notieren, nach der CAP waren es noch 11 Wunden ($p < 0,01$, Abb. 22). Bei Betrachtung der Keimspektren zeigten sich folgende Ergebnisse: 7 Wunden waren vor der Anwendung mit grampositiven Kokken besiedelt, 4 danach ($p > 0,05$). Auf einer Wunde wurden grampositive Stäbchen nachgewiesen, dessen Wundabstrich auch nach der CAP noch positiv war. 12 Wunden waren mit gramnegativen Stäbchen besiedelt. Nach der Anwendung waren diese auf 6 Wunden zu identifizieren ($p < 0,05$). Eine genaue Verteilung der Keimspektren kann der Tab. 11 entnommen werden.

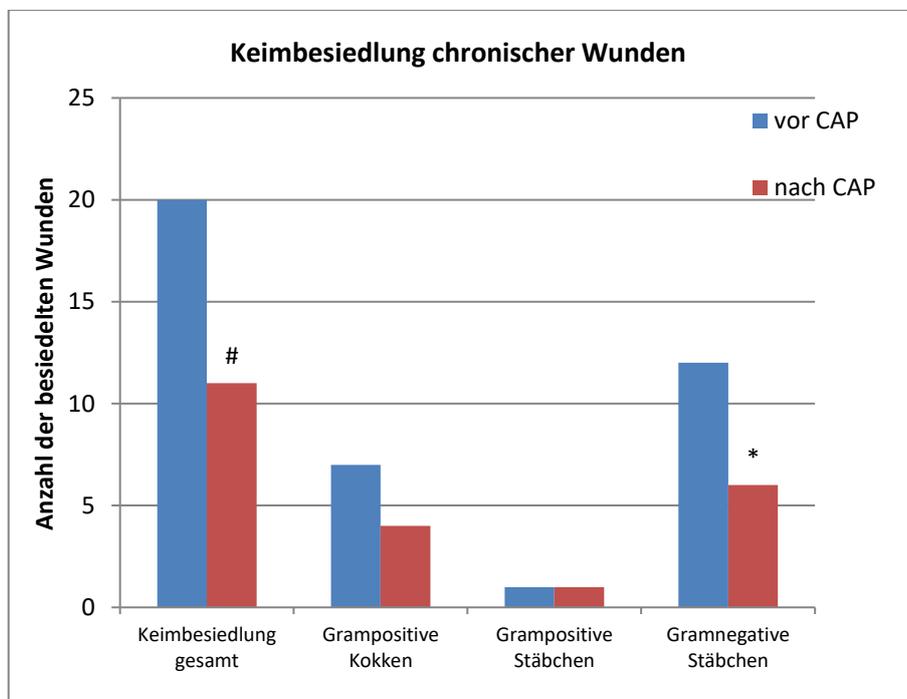


Abbildung 22 - Anzahl besiedelter chronischer Wunden mit Keimspektrum. * $p < 0,05$; # $p < 0,01$.

Keim	Vor CAP	Nach CAP
Staphylococcus aureus	3	1
Staphylococcus epidermidis	1	0
Streptococci	1	1
Enterococcus faecalis	1	1
Corynebacterium striatum	1	1
Escherichia coli	2	0
Pseudomonas aeruginosa	5	2
Klebsiella pneumoniae	1	1
Parvimonas micra	1	1
Citrobacter coseri	1	1
Enterobacter cloacae	3	2
Gesamt	20	11

Tabelle 11 - Verteilung der Keimspektren vor/ nach CAP.

3.6 Repetitive lokale CAP- Therapie auf chronischen Wunden

Patientenkollektiv

Es wurden 20 Datensätze von Patienten mit chronischen Wunden ausgewertet, deren Wunden in einer Sitzung dreimal lokal mit CAP behandelt wurden. Darunter befanden sich 7 Patienten mit pAVK, 5 Patienten mit Diabetes mellitus und 8 Patienten mit einer Kombination aus pAVK und Diabetes mellitus. In dem Patientengut mit Diabetes mellitus fand sich ein mittlerer HbA1c von $7,47 \pm 0,81\%$. Zudem wurde dokumentiert, ob der Diabetes mellitus insulinabhängig war (Tab. 12).

Auch in dieser Kohorte war die Mehrheit der Wunden nach der Wundklassifikation Wagner/Armstrong als oberflächlich (Grad 1) einzuordnen, während vier Wunden Defekte bis zur Sehnen- und Kapsel Ebene (Grad 2) zeigten.

Die Untersuchungen des ABI ergaben einen durchschnittlichen Quotienten von $1,05 \pm 0,39$, der als Normwert gedeutet wird und damit durchschnittlich keinen Hinweis auf eine pAVK gibt. Beim Neuropathiescore (MDNS) wurden $5,8 \pm 5,36$ Punkte über die Gesamtheit ermittelt, d.h. es lag im Durchschnitt keine Neuropathie vor. Die Verteilung der Schweregrade ist in Tab. 13 ersichtlich. Weitere Ergebnisse der Dokumentationsdaten wie Nebenerkrankungen, Medikamentenanamnese und Nikotinabusus sind der Tab. 13 zu entnehmen.

Diabetes mellitus	Insulinpflichtig	Nicht insulinpflichtig	Absolut	Relativ
Typ 1	1	0	1	7,7%
Typ 2	6	6	12	92,3%

Tabelle 12 - Anzahl der insulinabhängigen und insulinunabhängigen Diabetes mellitus - Patienten der Kohorte chronischen Wunden bei repetitiver CAP- Anwendung.

Anamnese	Absolut	Relativ
Diabetes mellitus	13	65%
Arterielle Hypertonie	15	75%
Koronare Herzkrankheit	8	40%
pAVK	15	75%
Chronisch venöse Insuffizienz	4	20%
Medikamente		
ASS	11	55%
Clopidogrel	7	35%
Marcumar	4	20%
β- Blocker	7	35%
Ca ²⁺ Antagonist	2	10%
Medikamentenanamnese unbekannt	3	15%
Neuropathie anhand MDNS		
Keine Neuropathie	12	60%
Milde Neuropathie	5	25%
Moderate Neuropathie	3	15%
Schwere Neuropathie	0	
Nikotinabusus		
Aktiv	8 (Ø37,5py)	40%
Terminiert	1	5%
Kein Nikotinabusus	11	55%
Gesamtzahl	20	100%

Tabelle 13 - Erkrankungen, Vorerkrankungen, Medikation sowie Klassifikation des Neuropathiestatus des Kollektivs repetitiver CAP- Anwendung an chronischen Wunden.

3.6.1 Ergebnisse der Mikrozirkulationsmessung Oberflächliche Gewebssauerstoffsättigung

Die Sauerstoffsättigung betrug vor der ersten CAP - Anwendung $66,41 \pm 19,94\%$. Innerhalb der ersten Minute stieg sie signifikant um 7,74% (1. Minute $71,55 \pm 22,0\%$, $p < 0,05$, Abb. 23). Über die gesamte Messzeit nach der ersten CAP- Therapie zeigte sich die Sauerstoffsättigung im Vergleich zur Baseline erhöht. Nach der zweiten CAP- Anwendung konnte die Sauerstoffsättigung auf maximal $75,05 \pm 14,99\%$ ($p < 0,01$) erhöht werden, was eine prozentuale Steigerung von 13%

darstellt. Auch nach dieser Anwendung war die Sauerstoffsättigung über die zehn Messminuten höher als die Baseline. Nachdem die Wunden das dritte Mal mit CAP behandelt wurden, nahm die Sauerstoffsättigung weiterhin zu – sie erreichte ein Maximum von $77,51 \pm 14,92\%$ ($p < 0,01$). Die Steigerung der Gewebsoxygenierung hielt bis zur 40. Messminute an. Nach der repetitiven CAP-Therapie auf chronischen Wunden war eine maximale Sauerstoffsättigung von $16,71\%$ zu verzeichnen.

Tiefe Gewebssauerstoffsättigung

Die Sauerstoffsättigung chronischer Wunden zeigte nach der ersten CAP-Therapie einen maximalen Anstieg von $12,75\%$ (1. Minute $74,26 \pm 18,28\%$ vs. Baseline $65,86 \pm 22,96\%$, $p > 0,05$). Sie war während der gesamten Messzeit höher als die Ausgangsmessung, zeigte allerdings keine erneuten Steigerungen nach der zweiten und dritten CAP-Behandlung. Nachdem CAP das zweite Mal angewendet wurde, war die Sauerstoffsättigung in der 12. Messminute am höchsten ($68,71 \pm 22,32\%$, $p > 0,05$), was eine prozentuale Steigerung von $4,3\%$ im Vergleich zur Baseline darstellt. Die Oxygenierung in der Gewebstiefe von 6-8mm hielt sich auf einem stabilen erhöhten Niveau nach der dritten CAP-Therapie. Allerdings konnten keine signifikanten Steigerungen erreicht werden. Die Sauerstoffsättigung lag in folgenden Messminuten um 69% : Minute 22 ($69,08 \pm 19,39\%$, $p > 0,05$), 23 ($68,86 \pm 19,42\%$, $p > 0,05$), 27 ($68,97 \pm 20,23\%$, $p > 0,05$), 31 ($69,03 \pm 19,97\%$, $p > 0,05$), 32 ($69,16 \pm 20,05\%$, $p > 0,05$), 34 ($68,95 \pm 19,72\%$, $p > 0,05$), 38 ($68,65 \pm 20,58\%$, $p > 0,05$), 39 ($68,56 \pm 21,80\%$, $p > 0,05$) sowie 40 ($68,69 \pm 20,96\%$, $p > 0,05$). Maximal zeigte sich die Sauerstoffsättigung nicht signifikant in der 37. Messminute nach der 3. CAP-Therapie ($69,90 \pm 19,45\%$, $p > 0,05$). Dies stellt eine prozentuale Zunahme von $6,13\%$ im Vergleich zum Zeitpunkt vor der CAP-Behandlung dar.

Oberflächlicher postkapillärer venöser Füllungsdruck

Die repetitiven CAP-Anwendungen führten zu keinen signifikanten Veränderungen des postkapillären venösen Füllungsdrucks im oberflächlichen Wundareal. Vor der ersten Anwendung betrug der Gefäßfüllzustand $77,07 \pm 22,08$ AU. Nach der ersten CAP-Therapie ging dieser mit nicht signifikanten Veränderungen einher – maximal zeigte er sich in der 1. Minute ($77,34 \pm 24,01$ AU, $p > 0,05$), minimal in der 10. Minute ($73,98 \pm 25,35$ AU, $p > 0,05$). Nach der zweiten CAP-Anwendung stieg die lokale Blutmenge maximal auf $77,72 \pm 21,51$ AU in Minute 13 ($p > 0,05$) und sank nicht signifikant auf minimal $74,65 \pm 23,14$ AU in der 20. Minute. Die dritte CAP-Behandlung führte zu einem Anstieg des postkapillären venösen Füllungsdrucks (21. Minute $84,68 \pm 22,32$ AU, $p > 0,05$), was eine maximale prozentuale Steigerung von $9,87\%$ darstellt. Bis zur 40. Messminute ($80,23 \pm 22,01$ AU, $p > 0,05$) war dieser Parameter im Vergleich zur Baseline nicht signifikant erhöht.

Tiefer postkapillärer venöser Füllungsdruck

Hingegen des oberflächlichen postkapillären venösen Füllungsdrucks nahm dieser in der Gewebstiefe von 6-8mm nach der dreifachen CAP- Therapie tendenziell ab. Die Ausgangsmessung lag bei $55,84 \pm 21,53$ AU. Nachdem das erste Mal CAP appliziert wurde, sank die lokale Blutmenge bis Minute 10 auf $54,29 \pm 23,85$ AU ($p > 0,05$). Die zweite CAP- Behandlung führte weiterhin zu geringeren Werten bis zu einem Minimum in Minute 17 ($51,81 \pm 20,75$ AU, $p > 0,05$). Nach der dritten CAP- Applikation sank der postkapilläre venöse Füllungsdruck weiter. Dies zeigte sich in Minute 25 signifikant ($50,19 \pm 22,15$ AU, $p < 0,05$), was gleichzeitig der niedrigste Wert der gesamten Messung und damit eine maximale signifikante Abnahme um 10,12% darstellt.

Oberflächlicher kapillärer Blutfluss

Vor den CAP- Applikationen lag der kapilläre Blutfluss im Durchschnitt bei $113,92 \pm 91,38$ AU (Abb. 24). Nach der ersten CAP- Anwendung sank er zunächst nicht signifikant auf minimal $103,63 \pm 89,59$ AU in der 1. Minute, $p > 0,05$. Die zweite CAP- Applikation bewirkte eine Zunahme des kapillären Blutflusses (Minute 15 $129,56 \pm 96,74$ AU, $p > 0,05$). Nachdem CAP zum dritten Mal angewandt wurde, waren weitere Steigerungen des kapillären Blutflusses zu beobachten. Statistisch signifikant wurden diese ab der 35. Messminute. Bis zur letzten Minute war der kapilläre Blutfluss im Vergleich zur Ausgangsmessung erhöht. Der kapilläre Blutfluss konnte nach der dreifachen CAP- Behandlung im oberflächlichen Wundareal signifikant um maximal 22,56% in Minute 37 ($139,62 \pm 96,81$ AU, $p < 0,05$) gesteigert werden.

Tiefer kapillärer Blutfluss

Die mehrfache Anwendung von CAP führte zu signifikanten Steigerungen des kapillären Blutflusses von chronischen Wunden (Abb. 25). Die Baseline lag bei $164,96 \pm 107,97$ AU. Nach der ersten CAP- Applikation präsentierte sich der Blutfluss in Minute 9 maximal ($178,33 \pm 98,65$ AU, $p > 0,05$), was eine statistisch nicht signifikante Steigerung von 8,1% ausmacht. Die zweite CAP- Behandlung bewirkte zunächst einen durchschnittlichen Blutfluss auf Höhe der Ausgangsmessung, während er bis zur 20. Minute anstieg ($187,39 \pm 95,02$, $p > 0,05$) – dies stellt eine nicht signifikante prozentuale Zunahme von 13,6% dar. Nachdem CAP das dritte Mal angewandt wurde, sank der kapilläre Blutfluss zunächst wieder (Minute 21 $173,45 \pm 102,02$ AU, $p > 0,05$), lag jedoch um 5% höher als vor den drei CAP- Applikationen. Von Minute 33 bis zum Ende der Messung präsentierte der kapilläre Blutfluss in der Gewebstiefe von 6-8mm signifikante Steigerungen. Maximal war er in Minute 36 ($193,10 \pm 99,72$, $p < 0,01$), was eine maximale Zunahme von 17,06% ist.

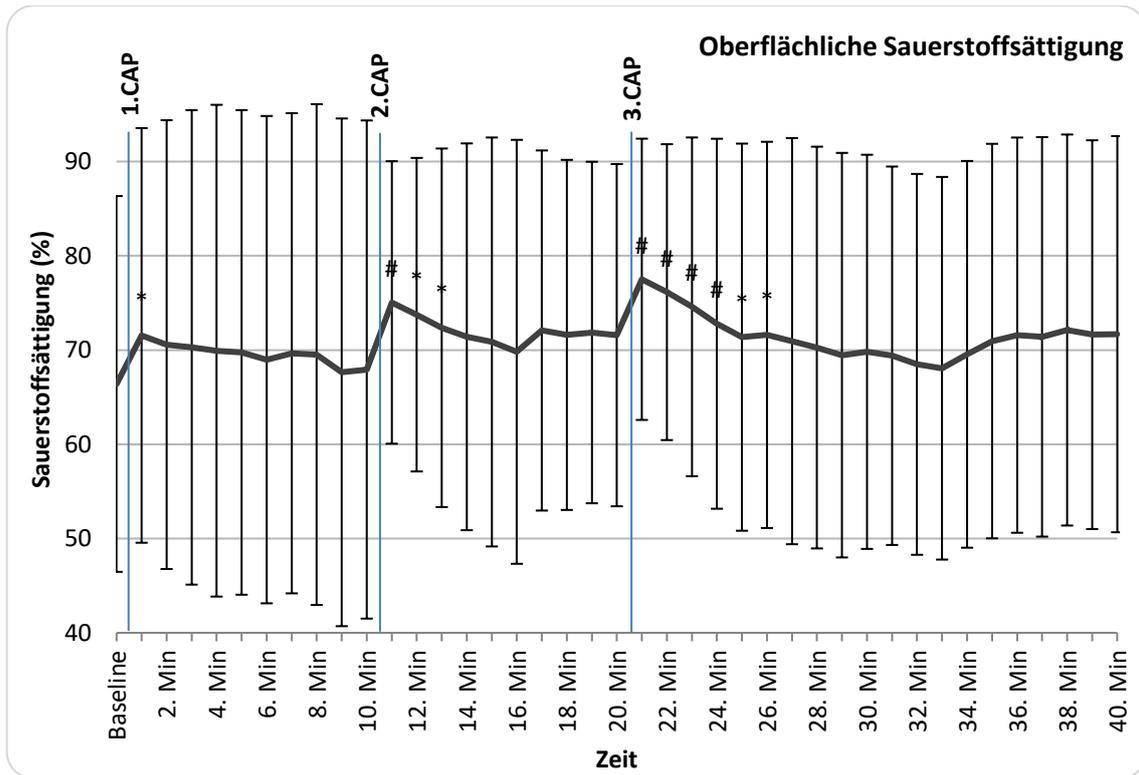


Abbildung 23 - Darstellung der Sauerstoffsättigung bei chronischen Wunden in 2-4mm Gewebstiefe bei repetitiver CAP- Anwendung. * $p < 0,05$, # $p < 0,01$.

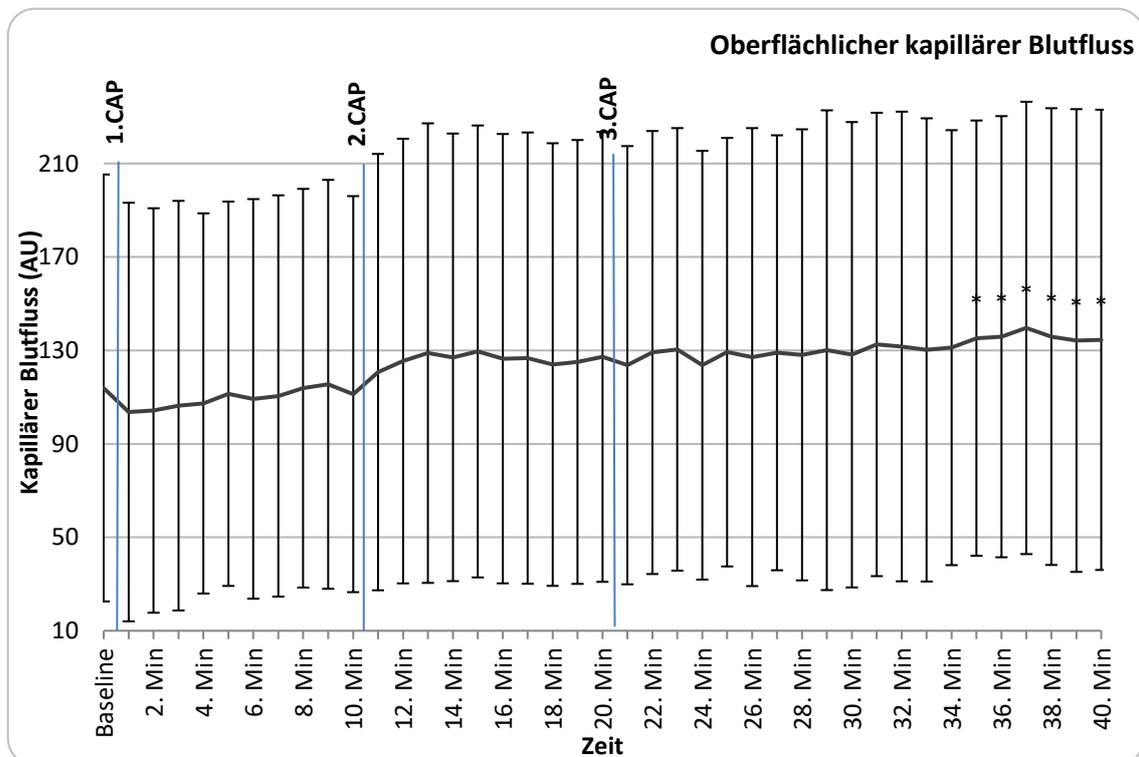


Abbildung 24 - Darstellung des kapillären Blutflusses bei chronischen Wunden in 2-4mm Gewebstiefe bei repetitiver CAP- Anwendung. * $p < 0,05$.

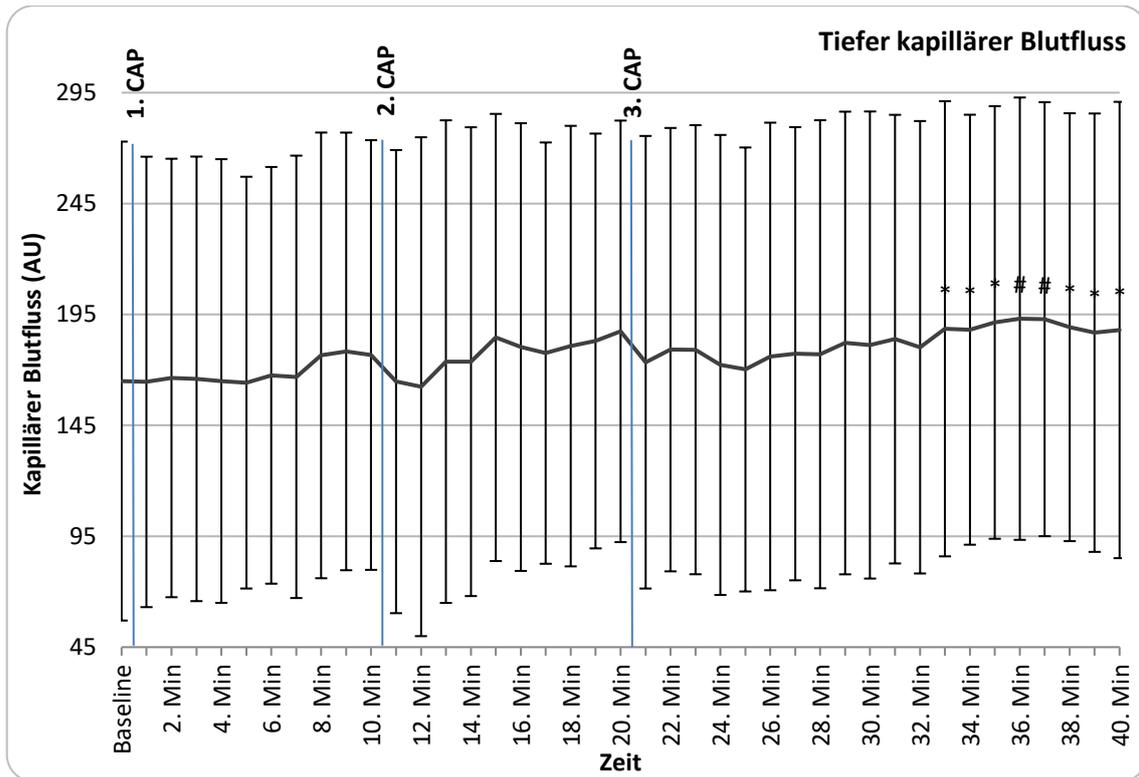


Abbildung 25 - Darstellung des kapillären Blutflusses bei chronischen Wunden in einer Gewebetiefe von 6-8mm nach repetitiver CAP- Anwendung. * $p < 0,05$, # $p < 0,01$.

4 Diskussion

4.1 Klinische Wirkungen von kaltem atmosphärischem Plasma

4.1.1 Einfluss von CAP auf die Mikrozirkulation

Sowohl bei spontanheilenden, Verbrennungswunden als auch bei den chronischen Wunden beeinflusste die Anwendung von direktem kaltem atmosphärischem Plasma die Mikrozirkulation. Vergleichbar mit dem Effekt in gesunder Haut nahmen die Sauerstoffsättigung und der kapilläre Blutfluss zu [15]. Beckert et al. stellten 2004 fest, dass die Sauerstoffsättigung und der kapilläre Blutfluss in nichtheilenden Wunden von Diabetespatienten signifikant niedriger waren im Vergleich zu heilenden Wunden von Diabetespatienten sowie im Vergleich zu gesunder Haut von Kontrollprobanden. Als heilende Wunden wurden zu Studienbeginn diejenigen definiert, deren Wundgröße sich innerhalb von 6 Wochen um mindestens 50% reduzierte. Aus dieser Erkenntnis kann davon ausgegangen werden, dass sowohl die Sauerstoffsättigung als auch der kapilläre Blutfluss prädiktive Parameter sind, um die Wahrscheinlichkeiten möglicher Heilungen von Wunden beurteilen zu können [62]. Daeschlin et al. führten 2018 Untersuchungen der Mikrozirkulation mit einer Hyperspektralkamera nach CAP-Applikation auf einer akut postoperativen und einer chronischen Wunde bei pAVK durch. Die Sauerstoffsättigung und die Hämoglobinkonzentration waren sowohl im behandelten Wundbereich als auch in der Wundumgebung nach der CAP-Behandlung erhöht [63]. Diese und unsere Ergebnisse mittels O2C-Erfassung unterstützen die Annahme, dass die Mikrozirkulation durch CAP-Behandlung in Wundbereichen gesteigert werden kann. Die erhöhte Sauerstoffsättigung ist als Zeichen einer verbesserten Durchblutung und damit verbesserter Gewebsoxygenierung zu werten [10, 64]. Die Steigerung des Blutflusses ermöglicht die effizientere Nährstoffversorgung des Gewebes sowie den besseren Abtransport von Stoffwechselprodukten [5].

Auch in vivo Studien untersuchten den Effekt von CAP auf die Mikrozirkulation. Kim et al. beobachteten Angiogeneseprozesse während Wundheilungsphasen im Mausmodell. Die Gefäßdichte war in der plasmabehandelten Region höher als im nahen Wundbereich im Vergleich zur nicht plasmabehandelten Region. Die Wundareale waren nach der Plasmabehandlung deutlich reduziert. Die Untersuchung mittels angiographisch- optischer Kohärenztomographie lässt vermuten, dass Plasmawirkungen die Wundoberfläche durchdringen und in vaskulären Wundgrenzbereichen Prozesse der Angiogenese initiieren [58]. Collet et al. maßen eine Steigerung der Sauerstoffsättigung sowie die Verbesserung des Blutflusses an Haut von Mäusen nach Plasmaapplikation mittels zeitgleich gemessenem Sauerstoffpartialdruck [56].

Zur Vorstudie von Kisch et al. zeigten unsere Messungen Unterschiede in den absoluten Ausgangswerten von Sauerstoffsättigung und kapillärem Blutfluss, die bei intakter Haut niedriger waren als bei Spalthautentnahmestellen und Verbrennungswunden [15]. Der Sauerstoffumsatz in gesunder Haut ist für den Zellerhalt geringer als in Wunden. Für die Gewebssanierung der Wunden ist zudem ein deutlich gesteigerter Metabolismus notwendig [18]. Höhere Ausgangswerte sind außerdem durch die bereits begonnene Neovaskularisation im Rahmen der Wundheilung zu erklären [65]. Durch die fehlende Epidermis und fehlende Anteile der Dermis ist der Messpunkt des O₂C näher am kapillären Plexus der verbliebenen Dermis verlagert [37, 66]

Analyse der erhobenen Mikrozirkulationsparameter

Gewebssauerstoffsättigung

Bei allen drei Wundentitäten ist in der Gewebsschicht von 2-4mm die Sauerstoffsättigung signifikant angestiegen. Auffallend sind die unterschiedlichen absoluten Werte sowohl der oberflächlichen als auch der tiefen Oxygenierungswerte.

Die Sauerstoffsättigung der Spalthautentnahmestellen als Modell spontanheilender Wunden zeigte in 6-8mm Gewebstiefe ($89,18 \pm 4,40\%$) höhere Ausgangswerte als in 2-4mm ($85,95 \pm 10,37\%$). Hingegen war die Sauerstoffsättigung von Verbrennungswunden in 2-4mm Gewebstiefe ($88,47 \pm 8,07\%$) um 10,77% höher als in 6-8mm ($77,70 \pm 16,90\%$).

Im Vergleich zu den Werten von spontanheilenden Wunden ($85,95 \pm 10,37\%$) wiesen die chronischen Wunden ($64,40 \pm 23,53\%$) noch stärkere Unterschiede auf. Allerdings gab es kaum Unterschiede zwischen Oberfläche (2-4mm: $64,40 \pm 23,53\%$) und Tiefe (6-8mm: $63,89 \pm 26,84\%$).

Die interindividuelle Varianz ist bei Letzteren wesentlich größer als bei den spontanheilenden und Verbrennungswunden, die durch die unterschiedlichen Stadien der pAVK und der Mikroangiopathien erklärbar sind. Es muss davon ausgegangen werden, dass die geringere Sauerstoffsättigung als ein wesentlicher Faktor der Durchblutung die verzögerte Heilung der chronischen Wunden bedingt. Die Sauerstoffsättigung stieg nach der einmaligen CAP- Anwendung in chronischen Wunden maximal um 13%. Die mehrfache Applikation von CAP konnte eine signifikante Steigerung der Oxygenierung um insgesamt 16,7% maximal in Bezug zur Ausgangsmessung bewirken. Insgesamt war die Sauerstoffsättigung im Wundbereich bis zur letzten Messminute höher als vor der CAP- Behandlung. Entsprechend kann von einer verbesserten Mikrozirkulation durch die mehrmalige CAP- Therapie ausgegangen werden, die die Wundheilung maßgeblich beeinflusst. Wie lang die Erhöhung der Sättigung anhält und welche Langzeiteffekte die CAP- Behandlung auf die Wundheilung hat, ist durch weitere klinische Studien zu prüfen.

Die Differenz der Sauerstoffsättigung der Verbrennungswunden zwischen Oberfläche und Tiefe ist als Hinweis auf einen verlängerten Heilungsprozess zu werten. Die eingeschränkte Durchblutung

aus der Tiefe kann mittels O2C frühzeitig diagnostiziert werden [18]. Einerseits kann diese Erkenntnis das bisherige klinische Prozedere und der visuellen Beurteilung der Wundentwicklung unterstützen und die Entscheidungsfindung zur operativen Versorgung von Verbrennungswunden erleichtern [10]; andererseits könnte die CAP-Behandlung eine Möglichkeit darstellen, die Mikrozirkulation und Wundheilungsprozesse zu optimieren und damit eine konservative ergänzende Therapiemethode zur Versorgung von IIa°-Verbrennungswunden.

Kapillärer Blutfluss

Der kapilläre Blutfluss nahm bei spontanheilenden Wunden und Verbrennungswunden nach einmaliger CAP- Behandlung an der Oberfläche signifikant zu. In chronischen Wunden stieg er in der tieferen Gewebsschicht von 6-8mm signifikant. Der gesteigerte Blutfluss war über die gesamte Messzeit von 30min in allen drei Wundentitäten zu verzeichnen und zeigte keine fallende Tendenz zum Ende der Aufzeichnung. Anhand dieser Ergebnisse kann vermutet werden, dass bereits die einmalige CAP- Therapie positive Auswirkungen auf die Wundheilung hat.

Der Vergleich der absoluten Werte der drei Wundarten zeigt Unterschiede. Die Ausgangswerte aller spontanheilenden Wunden (Oberfläche $214,07 \pm 66,07$ AU, Tiefe $258,23 \pm 45,64$ AU) sind absolut höher als die der Verbrennungswunden (Oberfläche $126,76 \pm 66,26$ AU, Tiefe $222,91 \pm 54,17$ AU). Eine noch größere Differenz besteht im Vergleich zu den chronischen Wunden (Oberfläche $102,15 \pm 85,19$ AU, Tiefe $162,71 \pm 100,99$ AU). Anhand dieser Werte kann gemutmaßt werden, dass der kapilläre Blutfluss einen prädiktiven Wert für die Wundheilung darstellt und niedrigere Werte auf verzögerte Wundheilungsprozesse hinweisen können. Dies zeigte Merz bereits 2007. Sie untersuchte im Rahmen der Dissertation in einer Verbrennungsklinik die Mikrozirkulation von IIa°- und IIb°- Verbrennungswunden und konnte mithilfe der Ergebnisse kritische Blutflusswerte von <100 AU festlegen, bei denen eine verzögerte Heilung auftrat [67]. Allerdings ist zu beachten, dass die Ausgangswerte auf Grund anatomischer Variationen zwischen Individuen sehr unterschiedlich sein können.

Betrachtet man die Veränderungen des kapillären Blutflusses nach einmaliger und repetitiver CAP- Therapie, lässt sich innerhalb der Kohorte spontanheilender Wunden folgendes feststellen: Die repetitive Behandlung hat keine Steigerung des Blutflusses zufolge. Auffällig sind bereits die absoluten Flow-Werte der Ausgangsmessung in der Oberfläche ($245,10 \pm 61,80$ AU) im Vergleich zur Baseline vor einmaliger CAP- Applikation ($184,52 \pm 56,77$ AU). Aufgrund anatomischer Variationen kann es zu diesen Unterschieden gekommen sein.

Die repetitive Applikation von CAP auf chronischen Wunden zeigte prozentual keine stärkere Zunahme des kapillären Blutflusses im Wundgebiet als die einmalige CAP- Behandlung während der

Messzeit. Dies kann die klinische Bedeutung des CAP in der kurz aufeinander folgenden Mehrfachanwendung bei chronischen Wunden in Frage stellen. Allerdings genügt die alleinige Betrachtung des Flows nicht, um eine Verbesserung und Steigerung von Wundheilungsprozessen nach repetitiver CAP- Behandlung auszuschließen. Insbesondere die gesteigerte Gewebsoxygenierung nach mehrmaliger CAP- Applikation kann als wichtiger Parameter der Mikrozirkulation berücksichtigt werden. Auffällig ist der jeweilige Anstieg des kapillären Blutflusses insbesondere zur zweiten Hälfte bis zum Endpunkt der Mikrozirkulationserhebung. Vermutungen liegen nahe, dass die CAP- Therapie die Mikrozirkulation nachhaltig beeinflussen kann. Um das langfristige klinische Outcome von Wunden und Wundheilung bezüglich des Blutflusses nach CAP- Behandlung beurteilen zu können, sind weitere, langfristig angelegte Studien erforderlich.

Postkapillärer venöser Füllungsdruck

Der postkapilläre venöse Füllungsdruck (rHb) ist als Parameter der lokalen Hämoglobinmenge und damit als Maß für die Blutmenge im Mikrogefäßsystem einzustufen. Krug wertete einen postkapillären venösen Füllungsdruck von über 90 AU als venösen Stauungsparameter. Die Filtrationskapazität nimmt mit zunehmendem rHb nach intravasal ab, was die Ödementwicklung des Gewebes nach sich zieht [18]. Die CAP-Therapie zeigte in unseren Untersuchungen unterschiedliche Effekte auf den rHb. Die einmalige CAP- Behandlung führte auf spontanheilenden Wunden zu keinen Veränderungen des rHb, während sich bei Verbrennungswunden bis 7-10%ige Steigerungen sowohl in 2-4mm als auch in 6-8mm Gewebstiefe über die gesamte Messzeit präsentierten.

Bei den chronischen Wunden stieg der rHb ausschließlich in der Tiefe um 8,4% nicht signifikant, wohingegen die CAP-Anwendung in der Oberfläche keine Veränderungen mit sich brachte. Kritische rHb-Werte von über 90 AU wurden in unseren Messungen nicht erreicht. Aus unseren Untersuchungen lässt sich daher schließen, dass die CAP-Therapie keine Effekte hat, die eine venöse Stauung begünstigt. Zur Einschätzung einer kritischen venösen Stauung genügt das alleinige Betrachten der lokalen Hämoglobinmenge nicht. Laut Krug ist diese in Betracht zu ziehen, wenn der rHb über 90 AU beträgt und die Sauerstoffsättigung gleichzeitig kritische Werte von unter 10% erreicht [18]. Da die CAP-Therapie in allen Kohorten eine Steigerung der Sauerstoffsättigung im Wundgewebe bewirkte, unterstützt es unsere Annahme, dass die CAP- Therapie keine kritische venöse Stauung nach sich zieht. Erwähnt werden muss nichtdestotrotz ein möglicher rHb-Anstieg nach CAP-Anwendung. Krämer mutmaßte 2012, dass eine Erhöhung des rHb eine Akkumulation metabolischer Stoffwechselprodukte begünstigen und damit Wundheilungsprozesse beeinträchtigen kann [43]. Inwiefern die CAP- Behandlung die postkapilläre venöse Füllung

verändert und welche langfristigen Auswirkungen Veränderungen der lokalen Blutmenge auf die Wundheilung haben, kann mit den hier vorliegenden Daten nicht abschließend beurteilt werden.

4.1.2 CAP - Einfluss auf Keimbeseidlung

In vitro- Studien zeigten antiseptische Effekte und inaktivierende Wirkungen des CAP auf Biofilme [68, 69]. Es kommen die in der Einleitung beschriebenen Wirkkomponenten zum Tragen - physikalische und biologische bzw. biochemische Wirkmechanismen sind relevant. Besonders reaktive Spezies und Radikale sind antimikrobiell wirksam [50]. Der dadurch hervorgerufene oxidative Stress kann zu Zellwandschäden führen. Einerseits wird die Integrität der Zellmembran und -wand durch direkte Permeabilisierung gestört, was das Austreten von Zellkomponenten bewirken kann [70, 71]. Sobald äußere Strukturen beschädigt sind, können reaktive Spezies ins Zellinnere penetrieren und dort die DNA-Struktur sowie intrazelluläre Proteine schädigen [49]. Imlay et al. wiesen u.a. eine Inaktivierung von eisenabhängigen Dehydratasen, mononukleären Eisenproteinen und DNA-Schäden nach [72]. Intrazelluläre Proteine werden folglich durch oxidative oder nitrosative Spezies beschädigt [71]. Relevant kann die Kombination aus ROS und RNS zur Inaktivierung von Mikroorganismen sein. Oehmigen et al. zeigten, dass Stickstoffoxide allein Bakterien nicht abtöteten [73]. Weiterhin führt Plasma chemisch zu direkten DNA-Schäden. Hydroxide und Sauerstoff werden gebildet und brechen atomare Bindungen der Zellwandstrukturen auf [49]. Elektrostatische Ionenbewegungen bewirkten mechanische Zerstörungen bakterieller Wandstrukturen [74].

UV-Strahlung und Ozone scheinen weniger relevante Bedeutungen im Kontext der Keimreduktion zu haben [51]. Dies wiesen auch Helmke et al. nach [75]. Veränderungen des pH-Wertes können ebenfalls zur Inaktivierung von Mikroorganismen beitragen [76–78]. Helmke et al schlussfolgerten in einer in vitro Studie an Staphylokokkus epidermidis- Kulturen, dass insbesondere die durch reaktive Spezies hervorgerufenen Membranschädigungen sowie bakterielle DNA-Schädigungen durch synergistische Wirkung der pH-Verschiebungen in das saure Milieu zur bakteriziden Wirkung beitragen. Komplette Wachstumshemmungen der Kulturen zeigten sich erst ab einem pH <4 [75]. In der Studie von Ikawa et al. führten pH-Senkungen auf 4,7 zur Keimabtötung. Auch in dieser Studie wurde die Wirkung von UV-Strahlung und Wärmeproduktion als weniger relevant angesehen [79].

Insgesamt scheint die Zusammensetzung der vom CAP-System gleichzeitig gelieferten Wirkkomponenten, dem sog. „chemischen Cocktail“, für die antimikrobiellen Wirkungen ausschlaggebend zu sein [69]. CAP kann die Keimzahl reduzieren, ohne allergene Reaktionen oder Resistenzen hervorzurufen. Auf folgende Mechanismen kann die inaktivierende Wirkung des

Plasmas zurückzuführen werden: "Erzeugen eines lebensfähigen, aber nicht kultivierbaren Zustands; peroxidative Schädigung von Lipiden, Proteinen und DNA; programmierter Zelltod bei Bakterien; direkte mechanische Lyse von Zellen aufgrund elektrostatischen Drucks" [76].

In mehreren Studien konnte eine höhere Empfindlichkeit gramnegativer Bakterien als grampositiver Keime gegenüber CAP gezeigt werden [17, 51, 80, 81]. Mai-Prochnow et al bestätigen eine stärkere Empfindlichkeit gramnegativer Bakterien gegenüber CAP. Sie vermuten eine Korrelation der plasmainaktivierenden Wirkung mit der Zellwanddicke [82]. Laroussi et al nehmen an, dass die Zellyse von *Escherichia coli*- Bakterien durch CAP auf elektrostatische Spannungen zurückzuführen ist sowie ein Zusammenhang mit antimikrobiellen Wirkungen reaktiver Sauerstoffspezies bestehen kann [81]. Insbesondere die äußere Zellhülle gramnegativer Erreger kann durch elektrostatische Spannungen lysiert werden, hingegen wirkt die dickere Mureinschicht grampositiver Bakterien schützend gegen CAP- Wirkungen [51].

Sowohl grampositive als auch gramnegative Bakterien wurden durch die CAP- Anwendung in unseren Untersuchungen auf den spontanheilenden und chronischen Wunden signifikant verringert. Die Unterschiede der Keimspektren der jeweiligen Wundentitäten sind klinisch typisch [83]. Es kommt im zeitlichen Verlauf von Wunden zu einem Wechsel des Keimspektrums. Bei Wundentstehung ist eine Kolonisation mit Hautkeimen wie beispielsweise dem grampositiven Bakterium *Staphylococcus epidermidis* charakteristisch. Heilt die Wunde nicht und besteht mehr als 4 Wochen ist sie häufiger mit Fäkalbakterien besiedelt, z.B. *Enterobacterium* spp. und Anaerobier [26]. Das zeigte ebenfalls unsere Untersuchung mittels Wundabstrich: spontanheilende Wunden waren vor allem mit grampositiven Bakterien kolonisiert, während die chronischen Wunden in absoluter Anzahl gehäuft von gramnegativen Keimen und Anaerobiern besiedelt waren. Schon 2014 zeigten Brehmer et al. die keimreduzierenden Wirkungen von CAP mit dem PlasmaDerm® in klinischer Anwendung auf chronisch venösen Ulzera [59]. Auch die tägliche Behandlung mit kaltatmosphärischem Argon- Plasma auf chronisch infizierten Wunden bewirkte hoch signifikante Reduktionen der Keimbelastung [84, 85].

4.1.3 CAP und Wundheilung

In vitro und in vivo Studien zeigten den positiven Einfluss von kaltem atmosphärischem Plasma auf die Wundheilung [53, 86]. Möglicherweise können kritisch heilende Wunden von CAP- Therapien profitieren. Einflüsse werden auf unterschiedliche Wirkkomponenten des Plasmas zurückgeführt.

Eine kritische Wundheilung resultiert häufig durch lokale Hypoxie. Die Stimulation von Zellproliferationen kann Angiogenese und damit die verbesserte lokale Sauerstoffversorgung regulieren. Eine tragende Bedeutung kommt der Ausschüttung von oxidativen Radikalen (ROS) zu, die in geringen Konzentrationen Signaltransduktionen und Genexpressionen regulieren. Über die Generierung reaktiver Spezies entsteht u.a. Stickstoffmonoxid (NO) [3]. Dieses nimmt Einfluss auf die kutane Mikrozirkulation. Bei direkter Applikation penetriert es die Epidermis und Dermis und entfaltet seine Wirkung [78]. Es ist bekannt als potenter Vasodilatator, wodurch der Blutfluss gesteigert und die Gewebeoxygenierung verbessert wird [56]. Unsere Untersuchungen unterstützen diese Annahmen: sowohl bei spontanheilenden, Verbrennungs- als auch chronischen Wunden konnte der Blutfluss gesteigert und die Sauerstoffsättigung durch die Plasmenapplikation erhöht werden.

Durch reaktive Sauerstoffspezies können die Endothelzellproliferation verbessert und die Ausschüttung von Wachstumsfaktoren stimuliert werden. Auch dadurch werden Angiogeneseprozesse induziert [49]. Schmidt et al. untersuchten im Mausmodell den Einfluss von CAP auf die Reepithelialisierung dermalen Ohrwunden. Die plasmabehandelten Wunden heilten schneller als die nichtbehandelten Wunden durch Förderung der Granulation und Reepithelialisierung. Weiterhin prüften sie den Einfluss eines kernspezifischen Faktors, der für die zelluläre Redoxhomöostase relevant ist - Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor). CAP-Behandlungen stimulierten die Bildung von Nrf2 [50]. Damit kann es Wirkungen auf intra- und extrazelluläre Redoxreaktionen sowie auf Entzündungsreaktionen haben. Nrf2 spielt zudem eine Schlüsselrolle bezüglich der Förderung von Granulation und Reepithelialisierung als Folge der Migration von Hautzellen. Außerdem kann es die Makrophagen- und Neutrophileneinwanderung an Wundstellen induzieren [50, 53]. Reparaturmechanismen der Haut werden u.a. durch die p53-Inhibition beschleunigt, was sich nach der CAP-Behandlung zeigte. Gleichzeitig erfolgte die Stimulierung von Angiogenese Faktoren. P53 ist ein Protein, das eine zentrale Rolle im programmierten Zelltod spielt. Es ist als Tumorsuppressorgen bekannt, was u.a. von großem Interesse in der onkologischen Forschung ist. Proinflammatorische Komponenten waren nach der CAP-Behandlung tendenziell vermindert. Fibroblasten, Keratinozyten, Makrophagen sowie neutrophile Leukozyten übernehmen im Prozess der Wundheilung wichtige Funktionen [53]. Die Plasmaanwendung kann die Wirkung von Fibroblasten und Keratinozyten stimulieren und damit die Wundheilung beschleunigen [87]. Hingegen zeigten Balzer et al 2015 einen reduzierenden Effekt auf die Lebensfähigkeit CAP-behandelter humaner Fibroblasten in vitro bei gleichzeitig möglicher Modifikation der Differenzierung von Fibroblasten zu Myofibroblasten. Nekrotische Zelluntergänge, Zellablösungen oder andere toxische Effekte waren nicht zu beobachten. Sie schlussfolgerten, dass die Behandlung mit kaltem atmosphärischem Plasma den

Wundheilungsprozess durch verschiedene Wirkkomponenten beeinflusst - die Wirkungen sind dosis-, anwendungs- und häufigkeitsabhängig [16].

Plasmaapplikationen führen zur Senkung des pH-Wertes auf Lipidoberflächen. Hydrolipidfilme gesunder Hautbereiche weisen ausgeglichene pH-Bereiche zwischen 5,4-5,9 auf. Steigt der pH über 6 werden für pathogene Hautkeime optimale Wachstumsbedingungen geschaffen. Bei niedrigeren Werten wird das Wachstum von Keimen hingegen gehemmt. Dieser Metabolismus ist für therapeutische Strategien der Wundheilung von Interesse, da Wundbereiche und betroffene Stellen von Hauterkrankungen Defizite im Säure-Base-Gleichgewicht aufweisen [77]. CAP kann die Ansäuerung im Gewebe induzieren und zur Akkumulation von Nitrit, Nitrat und Wasserstoffperoxid führen [16]. Wasserstoffperoxid (H_2O_2) kommt im Plasma vermehrt vor. Bei chronischen Wunden ist die endogene H_2O_2 -Synthese wegen lokaler Hypoxie vermindert. Roy et al. zeigten nach topischer Applikation von niedrigdosierter H_2O_2 -Lösung die Induktion von Angiogeneseprozessen. Grundlegend sei der Einfluss von H_2O_2 auf die Genexpression von VEGF und seinem Rezeptor VEGFR-1, die die Bildung von Endothelzellen induzieren. Die vermehrte Endothelzellbildung und Vaskularisierung unterstützen die physiologischen Wundheilungsprozesse [88]. Transdermal verabreichtes NO durch Anwendung von angesäuertem Nitrit und damit einhergehende Erniedrigung des pHs erhöhte die Durchblutung der epigastrischen Hautlappen von Ratten. Der oberflächliche Blutfluss wurde in der in vivo-Studie von Gribbe et al. mittels Laser-Doppler-Perfusionsbildgebung dargestellt [89].

Eine weitere Wirkkomponente des CAP stellt die Entstehung eines elektrischen Feldes dar. Goldman et al. zeigten am Wundmodell für Dekubitus und Beinulzera, dass die Proliferation dermalen Fibroblasten nach Applikation eines elektrischen Feldes angeregt wurde [90].

UV-Strahlung wird bereits in der Dermatologie erfolgreich als Therapiemethode zur Behandlung von Psoriasis und Ekzemen angewandt [3]. In Abhängigkeit der Wellenlänge kommen unterschiedliche Wirkungen durch UV-Strahlung zum Tragen. Während die längerwellige UVA-Strahlung (320-400nm) in tiefere Hautschichten eindringt, juckreizstillend und antifibrotisch wirkt, zeigt insbesondere das kurzwelligere UVB 311nm entzündungshemmende Wirkungen [91].

Hingegen der in vitro- und in vivo beschriebenen wundheilungsfördernden Prozesse erbrachten die bisher durchgeführten klinischen Untersuchungen des CAP in Anwendung auf chronisch venösen Ulzera keine signifikanten Unterschiede im gemessenen Wundbereich zwischen plasmabehandelter und Kontrollgruppe [57, 59]. Jedoch muss erwähnt werden, dass bei Vergleich der absoluten Wundgrößenreduktion eine stärkere Reduzierung der PlasmaDerm®-behandelten Wunden zu messen war. Zudem heilte nur eine Wunde in den sieben Wochen vollständig aus, diese erhielt die CAP-Applikationen [59]. Diese und weitere Studienergebnisse sind in der Metaanalyse

von Assadian et al. aufgeführt, die zusammenfassend der CAP- Anwendungen bislang keinen klinischen Benefit für die Behandlung offener chronischer Wunden zusprechen. Allerdings muss beachtet werden, dass verschiedene Plasmadevices ausgewertet wurden, wobei die unterschiedlichen technischen Details nicht grundlegend miteinander verglichen werden können [55].

Bernhardts aktueller Review fasst die möglichen Einflüsse des CAP auf die Wundheilung zusammen: UV-Strahlung und reaktive Gase wie Ozon desinfizierten Wunden, Stickoxide und Stickstoffspezies stimulierten die Gewebsregenerierung und elektrische Ströme stimulierten Angiogeneseprozesse. Zudem kann die Ansäuerung des Wundgebiets fördernde Wirkungen haben. In diesem Review verspricht man sich von der der Plasmabehandlung eine vielversprechende und kostengünstige neue Behandlungsoption im Bereich diverser Krankheiten [92].

4.1.4 CAP als sichere Behandlungsmethode?

In der klinischen Anwendung auf chronisch venösen Ulzera von Ulrich et al. zeigte sich die Anwendung mit dem kINPenMed- Plasmastab als eine sichere Methode, die für die Patienten gut verträglich war [57]. Auch die Verwendung des PlasmaDerm® bewies sich als sicher und wurde von der Mehrheit der Patienten an chronisch venösen Ulzera in der Studie von Brehmer et al. toleriert. Allerdings beschrieben zwei Patienten bei der PlasmaDerm®-Anwendung Schmerzen und ein Wärmegefühl im behandelten Bereich [59]. Isbary et al untersuchte die Wirkung von CAP-Argon auf die Keimbelastungen chronisch infizierter Wunden. Während der Behandlungen traten weder Schmerzen noch andere Komplikationen auf, sodass die CAP-Anwendungsmethode insgesamt als sicher und schmerzfrei eingestuft werden kann [84, 85].

Unerwünschte Wirkungen und Nebenwirkungen zeigten sich in unserem Patientenkollektiv bei einigen Patienten durch ein unangenehm kribbelndes Gefühl bis hin zu nadelstichartigen Schmerzen und teilweise auftretendem Wärmegefühl während der Plasmaanwendung mit dem PlasmaDerm® in allen drei Wundgruppen. Zu Studienabbrüchen führten diese unerwünschten Nebenwirkungen nicht. Unsere Beobachtungen stehen im Gegensatz zu den o.g. Studien und Untersuchungen von Emmert et al. [91].

Langzeitauswirkungen der Plasmabehandlungen wurden in den regulären Nachuntersuchungen der Patienten nicht evident. Bekannt ist aus vorangegangenen Studien die dosisabhängige Wirkung des CAP auf zelluläre Mechanismen, die die Keimreduktionen als auch die Mikrozirkulation beeinflussen [49]. In vivo- Studien zeigten nach der Anwendung zwei verschiedener Atmosphären hinsichtlich Kernaberrationen befruchteter Hühnereier keine genetischen Veränderungen.

Mutagene Wirkungen durch CAP konnte durch Kluge et al. ausgeschlossen werden [93]. Wende et al konnten keine genotoxischen Veränderungen an menschlichen Zellen in vitro feststellen. [94] Die Anwendung des Argon-Plasmas mittels MicroPlaSter β° hatte keine genotoxischen Auswirkungen auf die untersuchten Fibroblasten und Keratinozyten [95]. Die DBD Behandlung bewies sich in der Studie von Rajasekaran als sicher. Die 120sekündige Plasmabehandlung an Hautzellen von Mäusen verursachte keine Entzündungen, Veränderungen der Kollagenstrukturen noch induzierte es andere Gewebsverletzungen [96]. Die Anwendung des CAP-generierendem Jet kINPen verursachte auf menschlichen Lymphozytenzellen keine erhöhten Bildungsraten von Mikronuklei [97]. Erhöhte Mutagenitätsraten konnten auch an Zellen von chinesischen Hamstern in den Untersuchungen von Boxhammer et al. ausgeschlossen werden [98].

Rutkowski stufte die lokale Anwendung von CAP in seiner Dissertationsarbeit "hinsichtlich der therapieassoziierten Ausbildung kanzeröser bzw. präkanzeröser Läsionen, lokaler pathologischer Beeinflussung der kutanen Mikrozirkulation sowie einer Minderung der Lebensqualität" als sicher ein [51]. Andere potenziell schädigende Auswirkungen des elektrischen Feldes, der Temperatur, des Ozons oder der UV-Strahlung durch CAP-Behandlung an Schweinezellen und in vitro lebende epidermale menschliche Zellen konnten ausgeschlossen werden. In diesem Rahmen prüften Tümmel et al. Zytotoxizitätstests, die keine negativen Folgen der Plasmabehandlung aufbrachten [99].

Boehm et al. stufen in den Untersuchungen an fetalen Rinderseren die Generierung von Wasserstoffperoxid (H_2O_2) als möglichen Hauptfaktor der zytotoxischen Wirkung ein. In Abhängigkeit des umgebenen Mediums können die Effekte der Plasmabehandlung langlebig sein, sodass neben dem neuen Ansatz als Krebsbehandlung das Risiko der Karzinogenese durch oxidative stressbedingte genetische Veränderungen beachtet werden müssen [100].

Erhöhte H_2O_2 - Konzentrationen zeigten auch unterstützende Auswirkungen für Wundheilungsprozesse. Allerdings sind diese konzentrationsabhängig – in geringer Konzentration (0,15%) beschleunigt es Wundheilungsprozesse, während höherkonzentrierte (3%) Lösungen zu Gewebsschädigungen führten und Regenerationsprozesse hemmten. Noch höher gewählte Konzentrationen töteten in in vivo- Studien die untersuchten Mäuse [88]. Der Betrachtung von genotoxischen und mutagenen Wirkungen gingen Schmidt et al. nach. An murinen Ohrwunden der Haut konnten sie weder makroskopisch morphologische Veränderungen, histologische Gewebsveränderungen noch erhöhte Tumormarker nachweisen, sodass sie die Plasmaapplikation mit dem Argon-Plasma-Jet kINPen als langfristige sicher ohne tumoröse Entartungen einstufen [101].

4.2 Methodik - Mikrozirkulationsmessung

Zur Erhebung der Mikrozirkulation nutzten wir eine quantitative, einfach anwendbare, nicht invasive Messmethode (Oxygen-to-see Gerät, Firma LEA Medizintechnik GmbH, Gießen). Sie kombiniert Gewebsspektrometrie mit Laser-Doppler-Technik. Der große Vorteil des O2C ist die zeit- und ortsgleiche Untersuchung von Blutfluss und Sauerstoffsättigung [18], wodurch die mikrovaskuläre Versorgung des Gewebes beurteilt werden kann. Damit können Rückschlüsse auf mikrovaskuläre Dysfunktionen gezogen werden. Durch die Registrierung in verschiedenen Gewebetiefen kann die kutane als auch die oberflächlich muskuläre Mikrozirkulation je nach Messort und demnach je nach Fetttiefe differenziert betrachtet werden [64]. Es stellt eine valide und zuverlässige Messmethode dar, was in zuvor durchgeführten Studien gezeigt werden konnte [62, 64, 102, 103]. Ghazanfari et al. zeigten lineare Zusammenhänge für alle Messtiefen. Sie gaben für die Untersuchung des kapillären Blutflusses eine intraindividuelle Streuung von 5% an [102].

Wie in der Studie von Fuchs et al. ist die hohe inter- und intraindividuelle Variabilität der Messergebnisse aufgefallen [104]. Regionale Heterogenitäten der Hautperfusion und vielfältige patientenabhängige Faktoren wie u.a. Nikotinabusus oder Gefäßerkrankungen können diese Variabilität begründen. Hingegen oben erwähnter Studien werteten Roustit et al. diese Messtechnik wegen der hohen Variabilität als keine vollständig reproduzierbare Methode [105].

Sowohl als Vor- als auch als Nachteil der kombinierten Laser-Doppler- und Photospektrometrie ist die Sensitivität bei der Erkennung und die Quantifizierung relativer Veränderungen des Hautdurchflusses als Reaktion auf einen bestimmten Stimulus zu werten. Einerseits werden dadurch kleinste Veränderungen der mikrovaskulären Verhältnisse erkannt. Andererseits macht es diese Messtechnik störanfällig für Umgebungs- und Lokalfaktoren, die die Mikrozirkulation beeinflussen. Beispielsweise ist die Hautdurchblutung mitverantwortlich für die Thermoregulation – geringe Schwankungen führen insbesondere in Extremitäten wegen arteriovenöser Shunts zu erheblichen Unterschieden der kutanen Zirkulation [106]. Um diese Diskrepanzen zu minimieren, ruhten die Patienten vor den Messungen mindestens 15 Minuten zur Akklimatisierung unter Standardbedingungen.

Verschiedene Sonden ermöglichen die Applikation auf jeder anatomisch möglichen Körperstelle. Wir verwendeten die Flachsonde LFX-27, mit der die flexible Anpassung auf Haut und Wundoberflächen möglich war [18]. Statt der empfohlenen transparenten doppelseitigen Klebefolie nutzten wir eine transparente Tegadermfolie zur Fixierung der Sonde. Damit wurden Messdefizite durch Sondendislokation vorgebeugt. Die Applikation der Messsonde und die Zugfestigkeit des Pflasterstreifens sind benutzerabhängig. Weitere Störfaktoren der

Mikrozirkulationsmessung sind Muskelbewegungen und Umweltfaktoren wie Lichtverhältnisse und Temperatur, die durch Standardisierung des Versuchsablaufs und Erfassen des Umgebungslichtes vor Messungsbeginn möglichst ausgeschaltet wurden [107]. Messtechnische Fehler durch unterschiedliche Untersucher minimierten wir, indem immer derselbe Untersuchung die Messung in einer Kohorte ausführte.

Eine Limitation der Laser-Doppler-Gewebspektrometrie mittels O2C ist die Registrierung der Mikrozirkulation in einem nur kleinen Gewebeausschnitt [38]. Insbesondere in unserer Untersuchung war die Fläche des CAP-Geräts mit 22,5cm² nicht identisch mit der Sondendetektionsgröße des O2C-Geräts, sodass Veränderungen der Mikrozirkulation in angrenzenden Wundbereichen bzw. in angrenzenden gesunden Hautarealen nicht erfasst werden konnten. Ein weiterer Nachteil ist die Bestimmung des kapillären Blutflusses, der nicht in absoluten Perfusionswerten gemessen wird [38, 105], sondern indirekt aus der Anzahl von Erythrozyten in einem bestimmten Messvolumen ermittelt wird. Die daher verwendete Einheit „arbitrary units“ ist innerhalb des physikalisch internationalen Einheitensystems nicht generalisiert vergleichbar [18]. Insgesamt ist es als Nachteil anzusehen, dass dadurch keine Normwerte der Mikrozirkulationsparameter existieren können.

4.3 Limitationen

Je nach Kohorte dokumentierten wir verschiedene Kriterien, die Einfluss auf die Mikrozirkulation haben. Allerdings ist die Kohortengröße von n=20 für eine Subgruppenanalyse statistisch zu klein. Zukünftige größere Studien sollten insbesondere in Bezug auf die Untersuchung von chronischen Wunden Ursachen differenzieren. Die Mikrozirkulationsergebnisse sollten in die Auswertung Subgruppen einbeziehen, die Mikro- und Makroangiopathien/ Diabetes mellitus/ pAVK bzw. Diabetes mellitus und pAVK unterteilen. Bernheim stellte im Rahmen der Dissertationsarbeit 2018 fest, dass die Mikrozirkulation bei arterieller Verschlusskrankheit (AVK) mit und ohne Diabetes mellitus Veränderungen aufweist. Demnach sind die Sauerstoffsättigung und der kapilläre Blutfluss bei Patienten mit einem Kombinationsleiden aus AVK und Diabetes mellitus signifikant geringer als bei Patienten mit alleiniger AVK [103].

Gleiches trifft für die Einstufung der Polyneuropathie zu, von der wir keine statistische Subgruppenanalyse durchführten. Die Mikrozirkulation von Diabetespatienten mit nachweislicher diabetischer Polyneuropathie präsentierte sich in der Untersuchung von Lefrandt et al geringer als bei den Diabetespatienten, die nicht an einer diabetischen Polyneuropathie litten [108]. Ebenso werteten wir Daten der Mikrozirkulationsmessung nicht anhand der Nikotinanamnese und der Relation von Körpergewicht zu Körpergröße (BMI) näher aus. Der Einfluss von Nikotin auf das

Gefäßsystem ist in vielen Studien belegt worden. Nikotinkonsum steigert das Risiko an ischämischen Insulten und an akuten Myokardinfarkten zu erkranken [109, 110]. Ebenso beeinträchtigt es die Vasodilatation auf mikrovaskulärer Ebene [111]. Demnach ist auch von einem Einfluss auf die Haut- und Wunddurchblutung durch Nikotin auszugehen, welcher bei Auswertungen dieses Studienformats berücksichtigt werden kann. Bezüglich des BMIs konnte in der Vorstudie gesunder Probanden gezeigt werden, dass sich der Effekt von di_CAP bei normalgewichtigen Probanden stärker auf die Mikrozirkulation auswirkt als bei Probanden mit einem BMI ≥ 25 kg/m² [15]. Scalia befasste sich 2013 mit dem wechselseitigen Einfluss von Adipositas und Mikrozirkulation. Entzündungsprozesse scheinen im mikrovaskulären Gefäßbett zu beginnen. Durch Nährstoffüberladung produzieren Adipozyten erhöhte Konzentrationen der Lipoproteinlipase, die wiederum Triglyzeride synthetisiert. Freie Fettsäuren fallen vermehrt an, die akut entzündliche Prozesse im Gefäßendothel und damit mikrovaskuläre Dysfunktionen unterschiedlicher Organgewebe hervorrufen können [112]. Wie stark der Einfluss von Adipositas auf die kutane Mikrozirkulation ist, bleibt zum jetzigen Zeitpunkt ungeklärt. Die di_CAP- Therapie bewirkte in unseren Untersuchungen bereits statistisch signifikante Steigerungen der Mikrozirkulation, obwohl der durchschnittliche Wert des BMI im übergewichtigen Bereich lag.

Bei den akuten spontanheilenden Wunden wurde die Spalthaut in einer Tiefe von 0,2mm entnommen. Je nach Druckstärke des Dermatoms kann es zu Unterschieden der Epidermis- und Dermisabtragung gekommen sein, was u.a. Schwankungen der Messwerte begründen kann [66, 104].

Weitere Faktoren, die die kutane Mikrozirkulation beeinflussen können, sollten in zukünftigen Studien berücksichtigt werden: zum einen der Einfluss des Geschlechts sowie der Einfluss von kreislauf- und gerinnungswirksamen Medikamenten, von denen wir keine Subgruppenanalyse vornahmen.

4.4 Fazit und klinischer Ausblick

Es wurde der Einfluss von direktem kaltem atmosphärischem Plasma mit dem PlasmaDerm®-Gerät auf die Mikrozirkulation als Surrogatparameter der Wundheilung in den drei Wundentitäten spontanheilenden Wunden, Verbrennungswunden und chronischen Wunden untersucht. Die quantitative Erhebung der Mikrozirkulation erfolgte mit kombinierter Gewebsspektrometrie und Laser-Doppler-Technik (O2C- Gerät, Firma LEA Medizintechnik GmbH, Gießen).

Die Ergebnisse zeigen eine Verbesserung der kutanen Mikrozirkulation in den Wundarealen nach der CAP-Applikation. Insbesondere konnten Steigerungen der Gewebssauerstoffsättigung sowie des kapillären Blutflusses unabhängig der Wundentität beobachtet werden. Mitunter wurde die

Zunahme der kutanen Mikrozirkulation in chronischen Wunden durch mehrfache Plasmaanwendungen verstärkt. Messtechnische Defizite und Störfaktoren in der Mikrozirkulationsmessung können nicht vollkommen ausgeschlossen werden, auch wenn wir diese durch Standardisierung der Untersuchungsbedingungen wie Temperatur, Beleuchtung, Untersuchungsposition sowie exakter Befestigung der Sonde möglichst vorbeugten.

Die keimreduzierende Wirkung der CAP-Therapie wie es bereits in zahlreichen anderen Studien beschrieben wird, konnte in unseren durchgeführten mikrobiologischen Wundabstrichen bestätigt werden.

CAP ist eine sichere und von den Patienten tolerierbare Anwendungsmethode. Trotz zum Teil aufgetretener lokaler unerwünschter Wirkungen während der Anwendung wie beispielsweise Kribbelgefühl kam es zu keinen Studienabbrüchen.

In vitro und in vivo Studien konnten bisher keine genotoxischen, mutagenen oder kanzerogenen Effekte der CAP-Anwendung nachweisen. Es wurden jedoch auch dosisabhängige Wirkungen einzelner Komponenten des „Plasma-Wirkcocktails“ wie unter anderem der Bildung von Stickstoffoxiden, Wasserstoffperoxid und reaktiven Stickstoff- und Sauerstoffspezies beschrieben, deren Auswirkungen in langfristig klinisch angelegten Studien näher betrachtet werden sollten.

Bestandteil unserer Untersuchungen waren lediglich die Mikrozirkulationsmessungen direkt vor und direkt nach der CAP-Therapie über ein festgelegtes Zeitintervall. Längerfristig angelegte klinische Studien sind notwendig, um einerseits länger wirkende Effekte des CAP auf die Mikrozirkulation und die Wundheilung bewerten und andererseits mögliche Konsequenzen auf die Lebensqualität der Patienten erheben zu können.

In Zusammenschau unserer Ergebnisse mit den vielzähligen in vitro und in vivo Studien scheint die Anwendung von direktem kaltem atmosphärischen Plasma eine neue innovative Möglichkeit in diversen medizinischen Anwendungsfeldern und damit eine adjuvante nicht invasive Therapieoption zu sein. Einerseits wirkt CAP hemmend auf das Wachstum von Keimen, die insbesondere im stationären Bereich wegen zunehmender Häufigkeiten mit multiresistenten Erregern therapeutische Herausforderungen darstellen und letztendlich zu steigenden Mortalitätsraten führen. Andererseits hat es positive Wirkungen auf Wundheilungsprozesse, was bei kritisch heilenden Wunden infolge unterschiedlicher Genese wie Gefäßerkrankungen pAVK/chronisch venöse Ulzera oder das DFS wegen steigender Alterserwartung und Multimorbidität eine bedeutende Rolle spielt. Auch dermatologische Krankheitsbilder wie atopische Dermatitis, keloide Narben oder die Narbenbehandlung infolge von Akne können von der Anwendung mit CAP durch desinfizierende, entzündungshemmende und wundheilungsfördernde Wirkungen profitieren [92].

Durch die Förderung der kutanen Mikrozirkulation können CAP-Anwendungen im Bereich der plastischen Chirurgie eine Therapiemethode darstellen, wenn es im Rahmen von Haut- und Hautplastiktransplantationen zu kritischen Durchblutungen mit dem Risiko des Transplantatverlusts kommt.

Ein weiteres Anwendungsfeld stellt die Tumorbehandlung dar. Unter anderem wurde die CAP-Wirkung hinsichtlich muriner Hauttumore untersucht. CAP kann das Wachstum von Krebszellen durch Induktion von Apoptoseprozessen hemmen [92]. Für die Tumorbehandlung bietet die CAP-Therapie neue Möglichkeiten, deren Wirksamkeit durch zukünftige Studien untermauert werden muss.

5 Zusammenfassung

Hintergrund: Angesichts der klinischen Bedeutung von Wundheilungsstörungen untersucht diese Dissertation eine neue Therapiemöglichkeit. Wunden sind Verletzungen von physiologisch geschlossenem Gewebe, die klinisch in spontan heilende und chronische Wunden unterteilt werden. Ursächlich für kritisch heilende Wunden können Störungen der Mikrozirkulation sein, die durch kardiovaskuläre sowie metabolische Erkrankungen (arterielle Verschlusskrankheit, Diabetes mellitus) oder durch Verbrennungsverletzungen hervorgerufen werden können. In vitro und in vivo Studien konnten keimreduzierende und wundheilungsfördernde Wirkungen durch die Anwendung von kaltem atmosphärischem Plasma (CAP) zeigen. Direktes CAP ist ein ionisiertes Gas, das aus geladenen Teilchen besteht. Chemische und physikalische Wirkkomponenten werden über ein elektrisches Feld generiert. Diese können die kutane Mikrozirkulation beeinflussen, die als Surrogatparameter der Wundheilung gilt. **Fragestellungen:** Beeinflusst die CAP- Anwendung die Mikrozirkulation in Wunden? Welche Effekte hat die mehrmalige Anwendung? Zeigt die Anwendung Wirkungen auf die Keimbesiedlung? **Material und Methoden:** Auf 100 Wunden, darunter 40 spontanheilende Spalthautentnahmestellen, 20 Verbrennungswunden und 40 chronische Wunden, wurde direktes kaltes atmosphärisches Plasma (PlasmaDerm®, CINOGY, Duderstadt) appliziert. Die kutane Mikrozirkulation wurde vor und nach der Anwendung in den Gewebstiefen 2-4mm und 6-8mm mittels kombiniertem Laser-Doppler- und Photospektrometrierverfahren (Oxygen-to-see Gerät, Firma LEA Medizintechnik GmbH, Gießen) gemessen; dabei wurden Gewebssauerstoffsättigung [%], kapillärer Blutfluss [AU] und postkapillärer venöser Füllungsdruck [AU] erfasst. Neben der einmaligen CAP- Anwendung auf allen Wundarten wurden die Auswirkungen der dreifachen Anwendung auf spontanheilenden und chronischen Wunden untersucht. Darüber hinaus wurde die Keimbelastung der Wunden vor und nach der Behandlung bestimmt. **Ergebnisse:** Nach einmaliger CAP-Anwendung konnte die Sauerstoffsättigung in 2-4mm Gewebstiefe in allen untersuchten Wunden signifikant gesteigert werden - in spontanheilenden Wunden um 5%, in Verbrennungswunden um 5,4%, in chronischen Wunden um 12,6%. Auch der kapilläre Blutfluss nahm durch die einmalige CAP- Therapie signifikant zu – bei spontanheilenden Wunden um 25,8%, bei Verbrennungswunden um 35,95%, bei chronischen Wunden um 22,2%. Die mehrmaligen CAP- Applikationen führten in spontanheilenden Wunden zu einer signifikanten Abnahme des postkapillären venösen Füllungsdrucks. In chronischen Wunden zeigte die Sauerstoffsättigung in 2-4mm Gewebstiefe pro Applikation einen signifikanten Anstieg; der kapilläre Blutfluss zeigte nach mehrfacher Applikation eine signifikante Zunahme in oberflächlichen und tiefen Gewebsschichten. In spontanheilenden und chronischen Wunden kam es zur signifikanten Keimreduktion. **Schlussfolgerung:** Die Anwendung mit direktem kaltem

atmosphärischem Plasma führte zur Steigerung der Mikrozirkulation in den untersuchten Wundarealen, insbesondere bewirkte sie eine Zunahme der Sauerstoffsättigung und des kapillären Blutflusses. Die mehrmalige CAP-Applikation konnte diese Effekte noch verstärken. Die mikrobiologische Kolonisation konnte signifikant reduziert werden. Die CAP-Therapie kann demnach durch eine Steigerung der Mikrozirkulation und eine Reduktion der Keimbelastung wundheilungsfördernde Wirkungen aufweisen. Wie sich eine wiederholende und langfristige Anwendung des CAP im klinischen Alltag auf die Wundheilung auswirkt, sollte von zukünftigen Studien untersucht werden.

6 Literaturverzeichnis

- 1 Janssen B, 2019. Kraftquelle Tradition: Benediktinische Lebenskunst für heute. Münsterschwarzbach: Vier-Türme-Verlag
- 2 Lange B, Wessel LM. Wunden und Wundbehandlung. Im Internet: awmf.org; Stand: 11.09.2019
- 3 Kong MG, Kroesen G, Morfill G, Nosenko T, Shimizu T, van Dijk J, Zimmermann JL, 2009. Plasma medicine: An introductory review. *New J. Phys.* 11(11), 115012; DOI: 10.1088/1367-2630/11/11/115012
- 4 Müller- Wieland D, Kröger J. gesundheitsbericht_diabetes2018. Im Internet: www.diabetesde.org; Stand: 02.08.2019
- 5 Eming SA, Martin P, Tomic-Canic M, 2014. Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. *Sci Transl Med* 6(265), 265sr6; DOI: 10.1126/scitranslmed.3009337
- 6 Rosenthal J, Hrsg., 1980. Arterielle Hypertonie: Äthiopathogenese Diagnostik Therapie. Springer Berlin Heidelberg New York
- 7 Lawall H, Diehm C, Hoffmann U et al., 2015. Periphere arterielle Verschlusskrankheit: Epidemiologie, Komorbidität und Prognose. *Dtsch med Wochenschr* 140(24), 1798–1802; DOI: 10.1055/s-0041-107064
- 8 PMV-Forschungsgruppe. Epidemiologie und Versorgung von Patienten mit chronischen Wunden. Eine Analyse auf der Basis der Versichertenstichprobe AOK Hessen/KV Hessen. Abschlussbericht. 2016. Stand 03.12.2015. Im Internet: www.info-wundversorgung.de/iw-de/informationen-fuer-kassen; Stand: 20.08.2019
- 9 Gould L, Abadir P, Brem H et al., 2015. Chronic Wound Repair and Healing in Older Adults: Current Status and Future Research. *J Am Geriatr Soc* 63(3), 427–438; DOI: 10.1111/jgs.13332
- 10 Sen CK, Ghatak S, Gnyawali SC et al., 2016. Cutaneous Imaging Technologies in Acute Burn and Chronic Wound Care. *Plast Reconstr Surg* 138(3), 119S–28S; DOI: 10.1097/PRS.0000000000002654
- 11 Vogt PM, 2012. Praxis der Plastischen Chirurgie: Plastisch-rekonstruktive Operationen - Plastisch-ästhetische Operationen - Handchirurgie - Verbrennungschirurgie. Springer Berlin Heidelberg
- 12 Zagurov G 1983. Current problems in the pathology of burns. *Vutr Boles* 22(4), 11–17
- 13 Kamolz LP, Herndon DN, Jeschke MG, 2009. Verbrennungen: Diagnose, Therapie und Rehabilitation des thermischen Traumas. 1 Aufl. Springer Wien
- 14 Lehnhardt M, Hartmann B, Reichert B, 2016. Verbrennungschirurgie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg
- 15 Kisch T, Helmke A, Schleusser S et al., 2016. Improvement of cutaneous microcirculation by cold atmospheric plasma (CAP): Results of a controlled, prospective cohort study. *Microvascular Research* 104, 55–62; DOI: 10.1016/j.mvr.2015.12.002

- 16 Balzer J, Heuer K, Demir E et al., 2015. Non-Thermal Dielectric Barrier Discharge (DBD) Effects on Proliferation and Differentiation of Human Fibroblasts Are Primary Mediated by Hydrogen Peroxide. *PLoS ONE* 10(12), e0144968; DOI: 10.1371/journal.pone.0144968
- 17 Metelmann HR, Woedtke T, Weltmann KD, 2016. *Plasmamedizin*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg
- 18 Krug A, 2006. Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes. *Phlebologie* 35(06), 300–312; DOI: 10.1055/s-0037-1622158
- 19 Darby IA, Laverdet B, Bonté F et al., 2014. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. *CCID* 7, 301–311; DOI: 10.2147/CCID.S50046
- 20 Diener H, Kleinspehn E, Larena-Avellaneda A et al., 2017. Wundheilungsstörungen im Kontext – Epidemiologie und Pathophysiologie. *Gefäßchirurgie* 22(8), 524–532; DOI: 10.1007/s00772-017-0330-3
- 21 Gabbiani G, 2003. The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases. *The Journal of Pathology* 200(4), 500–503; DOI: 10.1002/path.1427
- 22 Sen CK, Roy S, 2008. Redox Signals in Wound Healing. *Biochim Biophys Acta* 1780(11), 1348–1361; DOI: 10.1016/j.bbagen.2008.01.006
- 23 Müller M, 2016. *Chirurgie für Studium und Praxis*. 13 Aufl. Breisach: Medizinische Verlags- und Informationsdienste
- 24 Danzer S, 2014. *Chronische Wunden: Beurteilung und Behandlung*. 4 Aufl. Stuttgart: Kohlhammer
- 25 Ijaz S, Thorley H, Porter K, Fleming C, Jones T, Kesten J, Mamluk L, Richards A, Marques EM, Savovic J, 2018. Interventions for preventing or treating malnutrition in homeless problem-drinkers: a systematic review. *Int J Equity Health* (17), 8; DOI: 10.1186/s12939-018-0722-3
- 26 Eckardt, A, Lobmann, R, 2015. *Der diabetische Fuß: Interdisziplinäre Diagnostik und Therapie*. 2 Aufl. Springer Berlin Heidelberg
- 27 Goebeler, 2017. *Basiswissen Dermatologie*. Springer Berlin Heidelberg
- 28 Dissemmond J, 2017. Chronisches Ulcus cruris. *Der Hautarzt* 68(8), 614–620; DOI: 10.1007/s00105-017-4010-8
- 29 Lefering R TO, 2019. *Verbrennungsregister - Deutsche Gesellschaft für Verbrennungsmedizin: Jahresbericht 2019 für den Zeitraum Jan. 2015 - Dez. 2018*
- 30 Ahnefeld FW, Bergmann H, 2013. *Die Verbrennungskrankheit: Entstehung, Verlauf und Therapie*. Springer Berlin Heidelberg
- 31 Köhlinger A, 2006. *Visualisierung der Mikrozirkulation in Verbrennungswunden mit OPS Imaging zur Bestimmung der Verbrennungstiefe: eine klinisch-experimentelle Studie*. Med. Diss. Bochum
- 32 Ravage Z, Gomez H, Czermak B, Watkins S, Till G 1998. Mediators of Microvascular Injury in Dermal Burn Wounds. *Inflammation* (22), 619–629
- 33 Bätge B, Stoll M, 2013. *Basislehrbuch Innere Medizin: Kompakt - greifbar - verständlich*. 5 Aufl. München: Elsevier, Urban & Fischer

- 34 Lee H, 2012. Mikrozirkulation der Haut und Intima-Media-Dicke bei ehemaligen extrem kleinen Frühgeborenen. Med. Diss. München
- 35 Levy BI, Ambrosio G, Pries AR et al., 2001. Microcirculation in hypertension: a new target for treatment? *Circulation* 104(6), 735–740; DOI: 10.1161/hc3101.091158
- 36 Altmeyer P, Hoffmann K., Stücker M, Hrsg., 1997. Kutane Mikrozirkulation. Springer Berlin Heidelberg
- 37 Braverman IM, 1997. The Cutaneous Microcirculation: Ultrastructure and Microanatomical Organization. *Microcirculation* 4(3), 329–340; DOI: 10.3109/10739689709146797
- 38 Neubauer-Geryk J, Hoffmann M, Wielicka M et al., 2019. Current methods for the assessment of skin microcirculation: Part 1. *Postepy Dermatol Alergol* 36(3), 247–254; DOI: 10.5114/ada.2019.83656
- 39 Vicaut E 1992. Hypertension and the microcirculation: a brief overview of experimental studies. *J Hypertens Suppl* 10(5), S59-68
- 40 Tritto I, Ambrosio G, 1999. Spotlight on microcirculation: an update. *Cardiovasc Res* 42(3), 600–606; DOI: 10.1016/S0008-6363(99)00020-6
- 41 Tooke JE 1996. Review Microvasculature in diabetes. *Elsevier Cardiovascular Research* (32), 764–771
- 42 Herold G, Hrsg., 2019. Innere Medizin. Köln: Gerd Herold
- 43 Kraemer R, 2012. In-vivo Evaluation der funktionellen kapillären Mikrozirkulation in der Plastischen Chirurgie. Med. Habil. Schr. Hannover
- 44 Tooke JE 2000. Possible pathophysiological mechanisms for diabetic angiopathy in type 2 diabetes. *Elsevier Journal of diabetes and its complications* (14), 197–200
- 45 Bhatt S, Mehta P, Chen C, Schneider CL, White LN, Chen H, Kong MG, 2019. Efficacy of low-temperature plasma-activated gas disinfection against biofilm on contaminated GI endoscope channels. *Gastrointest Endosc* 89(1), 105–114; DOI: 10.1016/j.gie.2018.08.009
- 46 Sakudo A, Yagyu Y, Onodera T, 2019. Disinfection and Sterilization Using Plasma Technology: Fundamentals and Future Perspectives for Biological Applications. *International Journal of Molecular Sciences* 20(20), 5216; DOI: 10.3390/ijms20205216
- 47 Deilmann M, Halfmann H, Bibinov N et al., 2008. Low-pressure microwave plasma sterilization of polyethylene terephthalate bottles. *J Food Prot* 71(10), 2119–2123; DOI: 10.4315/0362-028x-71.10.2119
- 48 Arjunan KP, Sharma VK, Ptasinska S, 2015. Effects of Atmospheric Pressure Plasmas on Isolated and Cellular DNA—A Review. *International Journal of Molecular Sciences* 16(2), 2971–3016; DOI: 10.3390/ijms16022971
- 49 Woedtke T, Reuter S, Masur K et al., 2013. Plasmas for medicine. *Physics Reports* 530(4), 291–320; DOI: 10.1016/j.physrep.2013.05.005
- 50 Woedtke T, Schmidt A, Bekeschus S et al., 2019. Plasma Medicine: A Field of Applied Redox Biology. *In Vivo* 33(4), 1011–1026; DOI: 10.21873/invivo.11570

- 51 Rutkowski R, 2018. Klinische Risikobetrachtung zur medizinischen Anwendung kalter Atmosphärendruckplasmen. Med. Diss. Greifswald
- 52 Kalghatgi S, Fridman G, Fridman A et al., 2008. Non-thermal dielectric barrier discharge plasma treatment of endothelial cells. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc 2008*, 3578–3581; DOI: 10.1109/IEMBS.2008.4649979
- 53 Schmidt A, Woedtke T, Vollmar B, Hasse S, Bekeschus S, 2019. Nrf2 signaling and inflammation are key events in physical plasma-spurred wound healing. *Theranostics* 9(4), 1066–1084; DOI: 10.7150/thno.29754
- 54 Kisch T, Schleusser S, Helmke A et al., 2016. The repetitive use of non-thermal dielectric barrier discharge plasma boosts cutaneous microcirculatory effects. *Microvascular Research* 106, 8–13; DOI: 10.1016/j.mvr.2016.02.008
- 55 Assadian O, Ousey KJ, Daeschlein G et al., 2019. Effects and safety of atmospheric low-temperature plasma on bacterial reduction in chronic wounds and wound size reduction: A systematic review and meta-analysis. *International Wound Journal* 16(1), 103–111; DOI: 10.1111/iwj.12999
- 56 Collet G, Robert E, Lenoir A et al., 2014. Plasma jet-induced tissue oxygenation: potentialities for new therapeutic strategies. *Plasma Sources Sci. Technol.* 23(1), 1–6; DOI: 10.1088/0963-0252/23/1/012005
- 57 Ulrich C, Kluschke F, Patzelt A et al., 2015. Clinical use of cold atmospheric pressure argon plasma in chronic leg ulcers: A pilot study. *Journal of wound care* (24), 196–203; DOI: 10.12968/jowc.2015.24.5.196
- 58 Kim DW, Park TJ, Jang SJ et al., 2016. Plasma treatment effect on angiogenesis in wound healing process evaluated in vivo using angiographic optical coherence tomography. *Appl. Phys. Lett.* 109(23), 233701; DOI: 10.1063/1.4967375
- 59 Brehmer F, Haenssle HA, Daeschlein G et al., 2015. Alleviation of chronic venous leg ulcers with a hand-held dielectric barrier discharge plasma generator (PlasmaDerm[®]) VU-2010): results of a monocentric, two-armed, open, prospective, randomized and controlled trial (NCT01415622). *J Eur Acad Dermatol Venereol* 29(1), 148–155; DOI: 10.1111/jdv.12490
- 60 Daeschlein G, Woedtke T, Kindel E et al., 2010. Antibacterial Activity of an Atmospheric Pressure Plasma Jet Against Relevant Wound Pathogens in vitro on a Simulated Wound Environment. *Plasma Processes and Polymers* 7(3-4), 224–230; DOI: 10.1002/ppap.200900059
- 61 Daeschlein G, Scholz S, Arnold A et al., 2012. In Vitro Susceptibility of Important Skin and Wound Pathogens Against Low Temperature Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ) and Dielectric Barrier Discharge Plasma (DBD). *Plasma Process. Polym.* 9(4), 380–389; DOI: 10.1002/ppap.201100160
- 62 Beckert S, Witte MB, Königsrainer A et al., 2004. The impact of the Micro-Lightguide O2C for the quantification of tissue ischemia in diabetic foot ulcers. *Diabetes Care* 27(12), 2863–2867; DOI: 10.2337/diacare.27.12.2863

- 63 Daeschlein G, Rutkowski R, Lutze S et al., 2018. Hyperspectral imaging: innovative diagnostics to visualize hemodynamic effects of cold plasma in wound therapy. *Biomed Tech (Berl)* 63(5), 603–608; DOI: 10.1515/bmt-2017-0085
- 64 Forst T, Hohberg C, Tarakci E et al., 2008. Reliability of lightguide spectrophotometry (O2C) for the investigation of skin tissue microvascular blood flow and tissue oxygen supply in diabetic and nondiabetic subjects. *J Diabetes Sci Technol* 2(6), 1151–1156; DOI: 10.1177/193229680800200625
- 65 Wild T, Auböck J, 2007. *Manual der Wundheilung: Chirurgisch-dermatologischer Leitfadens der modernen Wundbehandlung*. Vienna: Springer-Verlag/Wien
- 66 McGregor IA, Hrsg., 1987. *Plastische Chirurgie - Grundlagen und klinische Anwendungen*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag
- 67 Merz K, 2007. *Mikrozirkulation und Heilungsverlauf von Verbrennungswunden*. Med. Diss. Tübingen
- 68 Matthes R, Hübner N, Bender C et al., 2014. Efficacy of different carrier gases for barrier discharge Plasma generation compared to chlorhexidine on the survival of *Pseudomonas aeruginosa* embedded in biofilm in vitro. *SPP* 27(3), 148–157; DOI: 10.1159/000353861
- 69 Wiegand C, Beier O, Horn K et al., 2014. Antimicrobial Impact of Cold Atmospheric Pressure Plasma on medical critical yeasts and bacteria cultures. *SPP* 27(1), 25–35; DOI: 10.1159/000351353
- 70 Kvam E, Davis B, Mondello F et al., 2012. Nonthermal atmospheric plasma rapidly disinfects multidrug-resistant microbes by inducing cell surface damage. *Antimicrob Agents Chemother* 56(4), 2028–2036; DOI: 10.1128/AAC.05642-11
- 71 Mai-Prochnow A, Murphy AB, McLean KM et al., 2014. Atmospheric pressure plasmas: infection control and bacterial responses. *Int J Antimicrob Agents* 43(6), 508–517; DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2014.01.025
- 72 Imlay JA, 2013. The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: lessons from a model bacterium. *Nature Reviews Microbiology* 11(7), 443–454; DOI: 10.1038/nrmicro3032
- 73 Oehmigen K, Hähnel M, Brandenburg R et al., 2010. The Role of Acidification for Antimicrobial Activity of Atmospheric Pressure Plasma in Liquids. *Plasma Process. Polym.* 7(3-4), 250–257; DOI: 10.1002/ppap.200900077
- 74 Lunov O, Churpita O, Zablotskii V et al., 2015. Non-thermal plasma mills bacteria: Scanning electron microscopy observations. *Appl. Phys. Lett.* 106(5), 53703; DOI: 10.1063/1.4907624
- 75 Helmke A, Hoffmeister D, Berge F et al., 2011. Physical and Microbiological Characterisation of *Staphylococcus epidermidis* Inactivation by Dielectric Barrier Discharge Plasma. *Plasma Processes and Polymers* 8(4), 278–286; DOI: 10.1002/ppap.201000168
- 76 Gan L, Zhang S, Poorun D et al., 2018. Medizinische Anwendungen von nicht-thermischem Atmosphärendruckplasma in der Dermatologie. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 16(1), 7–14; DOI: 10.1111/ddg.13373_g

- 77 Helmke A, Hoffmeister D, Mertens N et al., 2009. The acidification of lipid film surfaces by non-thermal DBD at atmospheric pressure in air. *New J. Phys.* 11(11), 115025; DOI: 10.1088/1367-2630/11/11/115025
- 78 Heuer K, Hoffmanns MA, Demir E et al., 2015. The topical use of non-thermal dielectric barrier discharge (DBD): nitric oxide related effects on human skin. *Nitric Oxide* 44, 52–60; DOI: 10.1016/j.niox.2014.11.015
- 79 Ikawa S, Kitano K, Hamaguchi S, 2010. Effects of pH on Bacterial Inactivation in Aqueous Solutions due to Low-Temperature Atmospheric Pressure Plasma Application. *Plasma Processes and Polymers* 7(1), 33–42; DOI: 10.1002/ppap.200900090
- 80 Ermolaeva SA, Varfolomeev AF, Chernukha MY et al., 2011. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds. *J Med Microbiol* 60(Pt 1), 75–83; DOI: 10.1099/jmm.0.020263-0
- 81 Laroussi M, Mendis DA, Rosenberg M, 2003. Plasma interaction with microbes. *New J. Phys.* 5(1), 41.1–41.10; DOI: 10.1088/1367-2630/5/1/341
- 82 Mai-Prochnow A, Clauson M, Hong J et al., 2016. Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. *Sci Rep* 6, 38610; DOI: 10.1038/srep38610
- 83 Percival SL, Emanuel C, Cutting KF, Williams DW, 2012. Microbiology of the skin and the role of biofilms in infection. *International Wound Journal* 9(1), 14–32; DOI: 10.1111/j.1742-481X.2011.00836.x
- 84 Isbary G, Heinlin J, Shimizu T et al., 2012. Successful and safe use of 2 min cold atmospheric argon plasma in chronic wounds: results of a randomized controlled trial. *Br J Dermatol* 167(2), 404–410; DOI: 10.1111/j.1365-2133.2012.10923.x
- 85 Isbary G, Morfill G, Schmidt HU et al., 2010. A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients. *British Journal of Dermatology* 163(1), 78–82; DOI: 10.1111/j.1365-2133.2010.09744.x
- 86 Heinlin J, Zimmermann JL, Zeman F et al., 2013. Randomized placebo-controlled human pilot study of cold atmospheric argon plasma on skin graft donor sites. *Wound Repair Regen* 21(6), 800–807; DOI: 10.1111/wrr.12078
- 87 Bender CP, Hübner N-O, Weltmann K-D et al., 2012. Tissue Tolerable Plasma and Polihexanide: Are Synergistic Effects Possible to Promote Healing of Chronic wounds? In Vivo and In Vitro Results. In: Akishev Y, Hensel K, Machala Z, Hrsg. *Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security*. Dordrecht: Springer Netherlands, 321–334
- 88 Roy S, Khanna S, Nallu K et al., 2006. Dermal Wound Healing Is Subject to Redox Control. *Molecular Therapy* 13(1), 211–220; DOI: 10.1016/j.ymthe.2005.07.684
- 89 Gribbe O, Gustafsson LE, Wiklund NP, 2008. Transdermally administered nitric oxide by application of acidified nitrite increases blood flow in rat epigastric island skin flaps. *Eur J Pharmacol* 578(1), 51–56; DOI: 10.1016/j.ejphar.2007.09.032
- 90 Goldman R, Pollack S, 1996. Electric fields and proliferation in a chronic wound model. *Bioelectromagnetics* 17(6), 450–457; DOI: 10.1002/(SICI)1521-186X(1996)17:6<450::AID-BEM4>3.0.CO;2-2

- 91 Emmert S, Brehmer F, Hänßle H et al., 2013. Atmospheric pressure plasma in dermatology: Ulcus treatment and much more. *Clinical Plasma Medicine* 1(1), 24–29; DOI: 10.1016/j.cpme.2012.11.002
- 92 Bernhardt T, Semmler M, Schäfer M et al., 2019. Plasma Medicine: Applications of Cold Atmospheric Pressure Plasma in Dermatology. *Oxid Med Cell Longev* 2019(Article ID 3873928), 1–10; DOI: 10.1155/2019/3873928
- 93 Kluge S, Bekeschus S, Bender C et al., 2016. Investigating the Mutagenicity of a Cold Argon-Plasma Jet in an HET-MN Model. *PLoS ONE* 11(9), e0160667; DOI: 10.1371/journal.pone.0160667
- 94 Wende K, Bekeschus S, Schmidt A et al., 2016. Risk assessment of a cold argon plasma jet in respect to its mutagenicity. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis Vol.798-799*, 48–54; DOI: 10.1016/j.mrgentox.2016.02.003
- 95 Maisch T, Bosserhoff AK, Unger P et al., 2017. Investigation of toxicity and mutagenicity of cold atmospheric argon plasma. *Environ Mol Mutagen* 58(3), 172–177; DOI: 10.1002/em.22086
- 96 Rajasekaran P, Opländer C, Hoffmeister D et al., 2011. Characterization of Dielectric Barrier Discharge (DBD) on Mouse and Histological Evaluation of the Plasma-Treated Tissue. *Plasma Processes and Polymers* 8(3), 246–255; DOI: 10.1002/ppap.201000122
- 97 Bekeschus S, SCHMIDT A, Kramer A et al., 2018. High throughput image cytometry micronucleus assay to investigate the presence or absence of mutagenic effects of cold physical plasma. *Environ Mol Mutagen* 59(4), 268–277; DOI: 10.1002/em.22172
- 98 Boxhammer V, Li YF, Köritzer J et al., 2013. Investigation of the mutagenic potential of cold atmospheric plasma at bactericidal dosages. *Mutat Res* 753(1), 23–28; DOI: 10.1016/j.mrgentox.2012.12.015
- 99 Tümmel S, Mertens N, Wang J et al., 2007. Low Temperature Plasma Treatment of Living Human Cells. *Plasma Processes and Polymers* 4(S1), S465-S469; DOI: 10.1002/ppap.200731208
- 100 Boehm D, Heslin C, Cullen P-J et al., 2016. Cytotoxic and mutagenic potential of solutions exposed to cold atmospheric plasma. *Sci Rep* (6), 21464; DOI: 10.1038/srep21464
- 101 Schmidt A, Woedtke T von, Stenzel J et al., 2017. One Year Follow-Up Risk Assessment in SKH-1 Mice and Wounds Treated with an Argon Plasma Jet. *International Journal of Molecular Sciences* 18(868), 1–18; DOI: 10.3390/ijms18040868
- 102 Ghazanfari M, Vogt L, Banzer W et al., 2002. Reproduzierbarkeit nicht-invasiver Durchblutungsmessung mit der Laser-Doppler-Spektroskopie. *Phys Rehab Kur Med* 12(6), 330–336; DOI: 10.1055/s-2002-36189
- 103 Bernheim J K, 2018. Messung der Mikrozirkulation mit Oxygen To See (O2C) bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit. *Med. Diss. München*
- 104 Fuchs D, Dupon P, Schaap L et al., 2017. The association between diabetes and dermal microvascular dysfunction non-invasively assessed by laser Doppler with local thermal

- hyperemia: a systematic review with meta-analysis. *Cardiovasc Diabetol* 16(11), 1–12; DOI: 10.1186/s12933-016-0487-1
- 105 Roustit M, Cracowski J, 2012. Non-invasive assessment of skin microvascular function in humans: an insight into methods. *Microcirculation* 19(1), 47–64; DOI: 10.1111/j.1549-8719.2011.00129.x
- 106 Cracowski J, Minson C, Salvat-Melis M et al., 2006. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol Sci* 27(9), 503–508; DOI: 10.1016/j.tips.2006.07.008
- 107 Kröger K, Gröchenig E, 2017. Nicht invasive Diagnostik angiologischer Krankheitsbilder. 3 Aufl. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag
- 108 Lefrandt JD, Bosma E, Oomen PHN et al., 2003. Sympathetic mediated vasomotion and skin capillary permeability in diabetic patients with peripheral neuropathy. *Diabetologia* 46(1), 40–47; DOI: 10.1007/s00125-002-1004-5
- 109 Asplund K, Nasic S, Janlert U et al., 2003. Smokeless tobacco as a possible risk factor for stroke in men: a nested case-control study. *Stroke* 34(7), 1754–1759; DOI: 10.1161/01.STR.0000076011.02935.A1
- 110 Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE et al., 2017. Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* 135(10), e146-e603; DOI: 10.1161/CIR.0000000000000485
- 111 Ijzerman RG, Serne EH, van Weissenbruch MM et al., 2003. Cigarette smoking is associated with an acute impairment of microvascular function in humans. *Clin Sci (Lond)* 104(3), 247–252; DOI: 10.1042/CS20020318
- 112 Scalia R, 2013. The Microcirculation in Adipose Tissue Inflammation. *Rev Endocr Metab Disord* 14(1), 69–76; DOI: 10.1007/s11154-013-9236-x

7 Anhänge

0	Keine Läsion, ggf. Fußdeformation oder Zellulitis
1	Oberflächliche Ulzeration
2	Tiefes Ulkus bis zur Gelenkkapsel, zu Sehnen oder Knochen
3	Tiefes Ulkus mit Abszedierung, Osteomyelitis, Infektion der Gelenkkapsel
4	Begrenzte Nekrose im Vorfuß- und Fersenbereich
5	Nekrose des gesamten Fußes

Abbildung 26 - Wundklassifikation des Diabetischen Fußsyndroms nach Wagner

Michigan Diabetic Neuropathy score (MDNS)

Sensibilität

rechts	normal	abgeschwächt	fehlend
Vibration an der Großzehe	0	1	2
10g- Filament	0	1	2
Nadelstich an dorsaler Großzehe	schmerzhaft 0	nicht schmerzhaft 2	

links	normal	abgeschwächt	fehlend
Vibration an der Großzehe	0	1	2
10g- Filament	0	1	2
Nadelstich an dorsaler Großzehe	schmerzhaft 0	nicht schmerzhaft 2	

Muskelkraft

rechts	normal	moderat verringert	abgeschwächt	fehlend
Spreizen der Finger	0	1	2	3
Großzehenextension	0	1	2	3
Dorsalflexion des Fußes	0	1	2	3
links				
Spreizen der Finger	0	1	2	3
Großzehenextension	0	1	2	3
Dorsalflexion des Fußes	0	1	2	3

Reflexe

rechts	präsent	präsent bis verstärkt	nicht auslösbar
Bizepssehnenreflex	0	1	2
Trizepssehnenreflex	0	1	2
Patellarsehnenreflex	0	1	2
Achillessehnenreflex	0	1	2
links			
Bizepssehnenreflex	0	1	2
Trizepssehnenreflex	0	1	2
Patellarsehnenreflex	0	1	2
Achillessehnenreflex	0	1	2

Grad 0:	≤ 6 Punkte (keine Neuropathie)
Grad 1:	7-12 Punkte (leichte Neuropathie)
Grad 2:	13-29 Punkte (moderate Neuropathie)
Grad 3:	≥30 Punkte (schwere Neuropathie)

Abbildung 27 - Diabetischer Neuropathiescore (MDNS)

Dokumentationsbogen

Dokumentationsbogen für die <u>Referenzliste</u> zur Studie Quantifizierung der kutanen Durchblutung mittels O2C nach PlasmaDerm

Patienten-ID (=Erster Buchstabe von Vorname, Erster Buchstabe von Nachname, Geburtsjahr)	
Vor- und Nachname	
Geburtsdatum	____.____.____
Telefon (für Rückfragen)	
Email (für Rückfragen)	

Pseudonymisierter Dokumentationsbogen für Studiendaten zur Studie

Quantifizierung der kutanen Durchblutung mittels O2C nach PlasmaDerm

Datum der Messung: ____ . ____ . ____

Name des Anwenders: _____

Patienten-ID (=Erster Buchstabe von Vorname, Erster Buchstabe von Nachname, Geburtsjahr)	
Studiengruppe	<input type="checkbox"/> Einfach PlasmaDerm <input type="checkbox"/> Repetitiv PlasmaDerm
Wund/Knochengruppe	<input type="checkbox"/> Ila° Verbrennungswunde <input type="checkbox"/> Spalthautentnahmestelle <input type="checkbox"/> Chron. Wunde
Geburtsjahr	
Geschlecht	<input type="checkbox"/> männlich <input type="checkbox"/> weiblich
Größe	cm
Gewicht	kg
Krankengeschichte (kurz)	
Nebendiagnosen und sonstige Angaben	<p>Bei Chron. Wunde ausfüllen:</p> <input type="checkbox"/> Diabetes Mellitus Typ <input type="checkbox"/> 1 / Typ <input type="checkbox"/> 2 (<input type="checkbox"/> insulinpflichtig), hbA1c: % Erstdiagnose des Diabetes (Jahr): Wunde seit (Wochen): A. dorsalis pedis: <input type="checkbox"/> links, <input type="checkbox"/> rechts palpabel / <input type="checkbox"/> links, <input type="checkbox"/> rechts zu dopplern A. tibialis posterior: <input type="checkbox"/> links, <input type="checkbox"/> rechts palpabel / <input type="checkbox"/> links, <input type="checkbox"/> rechts zu dopplern ABI/Knöchel-Arm-Index: Transkutane Sauerstoffmessung (TcO2) per Radiometer: Michigan Diabetic Neuropathy Score (MDNS=DNS): Wundgröße an Messtag: cm x cm (=> ungefähr cm ²) <p>Bei Verbrennungswunde und Spalthautentnahme ausfüllen: Verbrennungsoberfläche: _____% Körperoberfläche (Falls Diabetes Mellitus, bitte auch Abschnitt unter „Bei Chron. Wunde ausfüllen“ ausfüllen) Postop-Tag (Spalthautentnahmestelle): _____ Tag nach Verbrennung: _____ Verbrennungsursache (heißes Wasser/Öl/Fett/Flamme...): _____</p> <p>Bei allen Patienten ausfüllen:</p> <input type="checkbox"/> Arterielle Hypertonie <input type="checkbox"/> KHK (<input type="checkbox"/> Bypass, <input type="checkbox"/> Stent) <input type="checkbox"/> pAVK, Stadium n. Fontaine: (<input type="checkbox"/> Schaufensterkrankheit, <input type="checkbox"/> Stent, <input type="checkbox"/> Bypass, <input type="checkbox"/> TEA) (Gehstrecke: Meter) <input type="checkbox"/> CVI <input type="checkbox"/> Nikotinabusus, packyears: <input type="checkbox"/> sonstige Gefäßerkrankung:
Medikation	<input type="checkbox"/> ASS <input type="checkbox"/> Clopidogrel <input type="checkbox"/> Marcumar

	<input type="checkbox"/> beta-Blocker <input type="checkbox"/> Ca-Antagonisten <input type="checkbox"/> Nitrospray
Einschlusskriterien	<p>Bei Chron. Wunde:</p> <input type="checkbox"/> Wunde älter als 3 Wochen und <input type="checkbox"/> Diabetes Mellitus oder <input type="checkbox"/> pAVK
	<p>Bei IIa° Verbrennungswunde:</p> <input type="checkbox"/> Rekap vorhanden bis grenzwertig <input type="checkbox"/> Feuchtverband auf Wunde (für Messung/Anwendung entfernen) <input type="checkbox"/> Verbrennungsverletzung innerhalb d. letzten 48 Stunden
	<p>Bei Spalthautentnahmestelle:</p> <input type="checkbox"/> Innerhalb der ersten 3 Tage nach Spalthautentnahme <input type="checkbox"/> Okklusivverband auf Wunde (für Messung/Anwendung entfernen)
Ausschlusskriterien	<input type="checkbox"/> Jünger als 18 Jahre <input type="checkbox"/> Sonstige Hauterkrankung im Applikations- oder Messbereich <input type="checkbox"/> Immunsuppressiva-Therapie <input type="checkbox"/> Kortison-Therapie <input type="checkbox"/> Gerinnungsstörungen <input type="checkbox"/> Schwangerschaft/Stillen <input type="checkbox"/> Lungennähe/Gehirnnähe/Rückenmarknähe/Infektion oder Tumor in der Nähe <input type="checkbox"/> Tiefe Venenthrombose (TVT)

Für Chron. Wunden:

WAGNER CLASSIFICATION OF DIABETIC FOOT ULCERS

Grade 0: No ulcer in a high risk foot.

Grade 1: Superficial ulcer involving the full skin thickness but not underlying tissues.

Grade 2: Deep ulcer, penetrating down to ligaments and muscle, but no bone involvement or abscess formation.

Grade 3: Deep ulcer with cellulitis or abscess formation, often with osteomyelitis.

Grade 4: Localized gangrene.

Grade 5: Extensive gangrene involving the whole foot.

8 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von PD Dr. med. Tobias Kisch in der Klinik für Plastische Chirurgie in der Direktion von Prof. Dr. med. Peter Mailänder durchgeführt. Wir kooperierten mit der Abteilung für Gefäßchirurgie unter der Leitung von Prof. Dr. med. Markus Kleemann des Universitätsklinikums Schleswig- Holstein, Campus Lübeck.

Meinen besonderen Dank möchte ich der Betreuung durch PD Dr. med. Tobias Kisch widmen, der mich in schwierigen Phasen motivieren konnte und mich in Zielstrebigkeit lehrte. Ich danke ihm für die Überlassung des Themas, für die Bereitstellung der Geräte und für die ausführliche Einführung in die wissenschaftliche Arbeit sowie für die ausführlichen Korrekturarbeiten.

Darüber hinaus möchte ich Sophie Schleusser für die Einweisung in das O2C- Gerät danken und für die jederzeitige Verfügbarkeit als Kollegin und Betreuerin.

Allen Mitarbeiter*innen (Sekretärinnen, Ärzt*innen, Pflegekräften, Therapeut*innen) der plastischen und gefäßchirurgischen Abteilung danke ich für die freundliche und kollegiale Arbeitsatmosphäre im stationären Alltag. Insbesondere möchte ich den Ärztinnen Dr. med. Henriette Deichmann und Dr. med. Franziska Buthut der gefäßchirurgischen Klinik danken. Trotz der zusätzlichen Studienarbeit waren sie stets freundlich, aufgeschlossen und unterstützten mich in der Organisation und Durchführung der Patientenakquise.

Herrn Thomas Derfuß der Firma LEA in Gießen möchte ich danken, für die zahlreichen spontan flexiblen Beratungszeiten und hilfreichen Antworten auf Fragen, die die Handhabung und zum Teil Reparaturen des O2C-Geräts betrafen.

Durch den Erhalt des Promotionsstipendiums der Universität zu Lübeck war es möglich ein Freisemester in der Studienzeit einzulegen. In diesem Rahmen möchte ich Prof. Dr. Eberhard Schwinger danken, der mich während der Bewerbungszeit unterstützte.

Bedanken möchte ich mich außerdem bei allen engen Freunden und Freundinnen, die mich in der gesamten Zeit unterstützten und mich motivierten in schwierigeren Zeiten durchzuhalten.

Meine größte Dankbarkeit gilt meinen Eltern, Silke und Detlef, die mich jeher mit voller Liebe und Aufmerksamkeit unterstützten. Sie brachten mir mein Leben lang Großzügigkeit, größte Wertschätzung und Unterstützung entgegen. Dabei verzichteten sie wie selbstverständlich auf den eigenen Wohlstand und Annehmlichkeiten des Lebens, womit sie mir letztendlich mir die Durchführung und Abschließen der Doktorarbeit ermöglichten.

9 Lebenslauf

Lysann Schulz	geboren am 09.03.1993 in Perleberg	
Schulbildung		
1999 – 2005	Grundschule, Rolandschule Perleberg	
2005 – 2012	Gottfried- Arnold- Gymnasium Perleberg	
06/2012	Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife	
Studium		
10/ 2012 – 06/2019	Humanmedizin, Universität zu Lübeck	
Ärztliche Prüfungen		
08/2014	1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Note „gut“	
04/2018	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Note „gut“	
06/2019	3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Note „sehr gut“	
Wissenschaftliche Arbeit		
2015 – 2020	Dissertationsarbeit in der Klinik für Plastische Chirurgie, UKSH Lübeck, Prof. Mailänder, PD Dr. Kisch	
Famulaturen		
02/2015	Hämatologische und Onkologische Ambulanz, Sana Kliniken Lübeck	
07/2015	Klinik für Radiologie, UKSH Lübeck	
09/2015	Zentrale Notaufnahme, Asklepios Klinik Hamburg Wandsbek	
03/2016	Kardiologie IMC, Sana Kliniken Lübeck	
08/2016	Internistische Hausarztpraxis Lübeck	
02/2017	Klinik für Plastische Chirurgie, UKSH Lübeck	
Praktisches Jahr		
05 – 09/2018	Prof. Saur, Anästhesie, Sana Kliniken Lübeck	
09 – 12/2018	Prof. Petros, Interdisziplinäre Internistische Intensivmedizin, Universitätsklinikum Leipzig	
01 – 02/2019	Prof. Jakob, Chirurgie, Universitätsspital Basel	
03 – 04/2019	Chirurgie, Sana Kliniken Lübeck	
Stipendien		
2016	Promotionsstipendium „Exzellenzmedizin“ der Universität zu Lübeck	
Beruflicher Werdegang		
Seit 12/2019	Ärztin in Weiterbildung für Innere Medizin am Universitätsklinikum Leipzig, Interdisziplinäre Internistische Intensivmedizin, Prof. Petros	

10 Veröffentlichung der Arbeitsergebnisse

Vorträge

(1) Schulz L, Kisch T, Stang F, Mailänder P, Krämer R. Quantifizierung der kutanen Mikrozirkulation im standardisierten Wundmodell nach Anwendung von kaltem atmosphärischem Plasma. Abstractvortrag. DGPRÄC/ ÖGPÄRC/ VDÄPC 2017, Graz.
