

Aus dem Institut/der Klinik für Dermatologie, Venerologie und
Allergologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Dermatologische Anwendung eines körperwarmen elektrischen
Plasmas

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Martin C. Klebes

aus Freiburg im Breisgau

Datum der Promotion: 04. September 2015

Meiner Familie gewidmet

Zusammenfassung	1
Abstract	3
1 Einleitung.....	4
1.1 Grundlagen von Plasmen	5
1.2 Wirkung und Anwendungsbeispiele	6
1.3 Zielsetzung	8
2 Material und Methoden.....	9
2.1 Plasma-Jet.....	9
2.2 Untersuchungen bei chronischen Wunden	9
2.3 Untersuchungen bei Psoriasis vulgaris	10
2.4 Statistische Auswertung.....	11
3 Ergebnisse und Diskussion	12
3.1 Risikobewertung zur Anwendung eines Atmosphärendruckplasmas auf der menschlichen Haut	12
3.2 Kombinierte antibakterielle Effekte von Atmosphärendruckplasma und herkömmlichem Antiseptikum bei chronischen Wunden	14
3.3 Effekte von Atmosphärendruckplasma auf Psoriasis vulgaris im Vergleich zur herkömmlicher Behandlung	16
4 Abkürzungsverzeichnis.....	19
5 Literaturverzeichnis	20
Eidesstattliche Versicherung	25
Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen.....	26
Druckexemplare der Publikationen.....	27
Tabellarischer Lebenslauf.....	52
Komplette Publikationsliste.....	55
Danksagung	57

Zusammenfassung

Niedertemperaturplasma (TTP) hat sich in den letzten Jahren zu einem interdisziplinären, innovativen Forschungsgebiet entwickelt. Durch seine vorteilhaften Eigenschaften eröffnen sich neue Perspektiven in der Medizin mit vielversprechenden Anwendungsmöglichkeiten in der Dermatologie.

Im ersten Teil der Arbeit konnte zunächst gezeigt werden, dass TTP weder im Hinblick auf die elektrische Sicherheit, noch die Temperaturerhöhung, UV-Strahlung oder freien Radikale schädigende Effekte auf die Haut hat. Die antiseptische Wirkung von TTP wurde in vitro an Schweineohren sowie in vivo auf der menschlichen Haut mit Octenisept® (ODC) verglichen. Dabei reduzierte TTP signifikant die Bakterienzahl.

In einer anschließenden Studie wurden antibakterielle Effekte von TTP, Octenisept® (ODC) und der Kombination von beiden bei Patienten mit chronischen Wunden miteinander verglichen. Sowohl TTP als auch ODC waren antibakteriell wirksam. Am effizientesten war die antibakterielle Wirkung bei der kombinierten Anwendung von ODC und TTP.

Der ausschließliche Einsatz von TTP führte kaum zu einem Shift der bakteriellen Besiedlung. Die ODC-Applikation bewirkte einen prozentual stärkeren Rückgang von Staphylokokken. Die kombinierte Anwendung dagegen reduzierte den Anteil von Staphylokokken und führte zu einer Eradikation von Enterobakterien. TTP führte zu einer insignifikant höheren Reduktionsrate bei leicht und stark exudierenden Wunden. Dagegen erreichte ODC eine höhere Reduktionsrate bei Wunden mit moderater Exudation. Die kombinierte Anwendung von TTP und ODC führte bei allen Wundtypen zu einer effektiven Keimreduktion. Für die Wirkung des TTPs sind nicht nur die desinfizierenden Eigenschaften, sondern auch Temperatur und UV-Strahlung verantwortlich. Die Studie zeigte außerdem, dass TTP, ODC und die Kombination gut verträglich und schmerzarm sind.

Basierend auf positiven Erhebungen bei chronisch entzündlichen Hauterkrankungen wurde ferner in einer Pilotstudie der Effekt auf Psoriasis vulgaris untersucht. Hier brachte TTP im Vergleich zu einer Standardtherapie keine signifikanten Vorteile. Die dabei durchgeführten Abstriche auf Psoriasisplaques bestätigten erneut die antibakterielle Wirkung von TTP.

Die Ergebnisse zeigen, dass allen voran in der modernen Wundbehandlung die Kombination von Plasma mit einem herkömmlichen Antiseptikum neue Möglichkeiten für eine sichere und suffiziente Keimreduktion eröffnet.

In weiterführenden Studien könnten Effekte des TTP auf chronische Wunden über einen längeren Zeitraum evaluiert und Anwendungsgebiete auf bakteriell bedingte Dermatosen geprüft werden.

Abstract

Tissue-tolerable plasma (TTP) has recently developed into an interdisciplinary and innovative field of research. Due to its promising properties new perspectives in medicine and promising applications in dermatology are possible.

In the first phase of the investigations it was shown that TTP can be applied on human skin without any risk in terms of electrical safety, temperature, UV radiation, or free radicals. Moreover it is effective in tissue disinfection.

Subsequently, antibacterial effects of TTP, Octenisept® (ODC) and a combination of both were compared in patients with chronic wounds. Both plasma and ODC showed antibacterial activity. The highest antibacterial effects could be observed in the combined use of ODC and TTP. The use of TTP alone resulted in a slight shift of bacterial colonization whereas ODC application resulted in a larger decrease of Staphylococcus. The combined application, however, reduced the percentage of Staphylococcus and led to an eradication of Enterobacteria. TTP yielded an insignificant higher rate of reduction in mildly and strongly exuding wounds. In contrast, a higher reduction rate for wounds with moderate exudates was reached using ODC. The combined application of TTP and ODC caused an effective microbial reduction in all wound types. The study also showed that TTP, ODC and their combined application are well tolerated and painless.

Based on reports of successful TTP treatment in chronic inflammatory skin diseases, the effect on psoriasis vulgaris was investigated in a pilot study. However, TTP did not result in any significant advantages compared to standard therapy. Swabs taken before and after the TTP-treatment on psoriatic plaques confirmed the antibacterial effects of this innovative technology.

The results indicate that especially in modern wound treatment, the combination of plasma with conventional antiseptics may provide new potentials for a safe and satisfactory microbial reduction.

1 Einleitung

Etwa zwei bis drei Millionen Menschen leiden in Deutschland an chronischen Wunden (1). Chronische Wunden bezeichnen einen Integritätsverlust der Haut, welcher innerhalb von 8 Wochen nicht abheilt (2). Die häufigste Form chronischer Wunden ist mit 60-80% das Ulcus cruris venosum, 10-15% sind arterielle Ulcera, etwa 10% gemischt arterio-venöse Formen. Etwa 10% entfallen auf übrige Ulcera (3). Chronische Wunden sind häufig mit dermalen, fäkalen oder oralen Keimen besiedelt (4). Zudem bilden sich in den meisten Fällen Biofilme aus. Die Reduktion der Keimzahl korreliert mit der Wundheilung und spielt in der modernen Wundbehandlung eine wichtige Rolle.

Die derzeit angewendeten Therapien bei chronischen Wunden basieren auf einer Kombination aus einem wundreinen Debridement, einer antiseptischen Therapie sowie der Anregung von Granulationsgewebe. Herkömmliche flüssige Antiseptika wie z.B. Octenisept® können zytotoxisch wirken und nur bis zu einem gewissen Ausmaß die multibakterielle Besiedlung dezimieren. Oftmals verhindern die Wundbeschaffenheit, Biofilme der Mikroorganismen oder eine zunehmende Resistenzbildung eine wirksamere antiseptische Behandlung. So können z.B. in Haarfollikeln Bakterien nicht eradiziert werden und von dort zu einer Wiederbesiedlung führen. Deshalb wird weiter nach wirksamen Therapiekonzepten zur Wundbehandlung gesucht.

Physikalische Therapien bilden einen neuen Ansatz bei der Wundbehandlung. Sie könnten eine Alternative oder Ergänzung zu herkömmlichen Therapien bringen, da ihre antibakterielle Wirkung nicht auf resistenzbildenden chemischen oder biologischen Mechanismen beruht. Bei den physikalischen Therapien zur Wundbehandlung richtet sich in jüngster Zeit der Blick vor allem auf das Niedertemperaturplasma, in der englischsprachigen Literatur auch Tissue tolerable Plasma (TTP) genannt. Erste Forschungsergebnisse deuten darauf hin, dass dieses kalte Plasma nicht nur auf Materialoberflächen angewendet werden kann, sondern auch auf lebendem Gewebe wie der menschlichen Haut und Wunden zu positiven antiseptischen Effekten führt (5, 6).

1.1 Grundlagen von Plasmen

Plasma wird häufig neben fest, flüssig und gasförmig als vierter Aggregatzustand beschrieben (7). 1879 nannte William Crookes erstmals diese Art des Aggregatzustandes "radiant Matter" zu Deutsch „strahlende Materie“ (8). Es entsteht, wenn durch Energiezufuhr Atome eines neutralen Gases angeregt werden (9). Dann liegen neben neutralen Atomen und Molekülen, Ionen und freie Radikale vor. Zudem wird UV-Strahlung emittiert und es bilden sich elektrische Felder aus. Das Gasgemisch des Plasmas führt zu einem charakteristischen Leuchten und ist beispielsweise in der Natur als Polarlicht oder Blitz sichtbar.

Generell unterscheidet man zwischen heißem (thermischem) und kaltem (nicht-thermischem) bzw. Niedertemperatur-Plasma (10). Bei thermischen Plasmen ist die Temperatur der Ionen und der Elektronen gleich. Solche Plasmen sind dann einige hundert Grad heiß. Bei nicht-thermischen Plasmen ist das Gas (z.B. Helium oder Argon) nur schwach ionisiert. Elektronen sind nicht in der Lage ihre kinetische Energie auf größere Partikel zu übertragen. Das Plasma kann hier in einem Temperaturbereich von 35 C° bis 45 C° erzeugt werden (11).

Niedertemperaturplasmen kann man in direkte, indirekte und Hybridplasmen untergliedern. Bei direkten Plasmen dient das Gewebe als Elektrode. Der Strom fließt durch den Körper (z.B. Dielectric Barrier Discharge) (12). Indirekte Plasmen entstehen zwischen zwei Elektroden. Durch den Gasstrom gelangen sie zur gewünschten Anwendungsfläche. Indirektes Plasma wird z.B. durch den Atmosphärendruck-Plasma-Jet kINPen erzeugt (13).

Hybridplasma kombiniert beide Typen, allerdings ohne dass ein Strom durch das Gewebe fließt (7).

1.2 Wirkung und Anwendungsbeispiele

Die Wirkmechanismen des Plasmas beruhen nach derzeitigem Kenntnisstand auf der *UV-Strahlung*, *elektrischen Feldern* und *reaktiven Spezies* (reaktiven Sauerstoff-Spezies oder reaktiven Stickstoffspezies).

UV-Strahlung unterschiedlicher Wellenlänge wird aufgrund antiinflammatorischer Wirkung z.B. bei der Behandlung der Psoriasis oder aufgrund von juckreizlindernden Effekten bei Pruritus eingesetzt. UV-Strahlung kann aber auch antibakteriell wirken und über Schädigung der Bakterien-DNA zu deren Absterben führen.

Elektrische Felder können mit biologischem Gewebe interagieren und deren Oberfläche verändern. In der Dermatologie finden solche elektrischen Felder z.B. bei der Iontophorese zur Behandlung von Hyperhidrosen Verwendung (14).

Reaktive Spezies wie Ozon haben desinfizierende Eigenschaften (15). Zudem zeigen Studien, dass reaktive Sauerstoffspezies positive Auswirkungen auf die Wundheilung haben (38). Nebenwirkungen konnten bei der Anwendung von TTP bislang nicht beobachtet werden (8).

Plasmen eröffnen vielfältige Möglichkeiten für einen Einsatz in der Medizin (16). So werden thermische Plasmen bereits zur Sterilisation von medizinischen Geräten, Oberflächenmodifikation von Implantaten oder Kauterisation verwendet (16-18).

Niedertemperaturplasmen haben abgesehen von den thermischen Effekten gleiche Eigenschaften wie thermische Plasmen.

In den Fächern der Onkologie, der Zahnmedizin und der Dermatologie ergeben sich damit neue Anwendungsmöglichkeiten an lebendem Gewebe. So werden beispielsweise in der Onkologie Effekte von TTP auf Tumorzellen untersucht (19–21). Auch in der Zahnmedizin zeigen erste Ergebnisse positive Effekte von Plasma – so etwa bei der Aufhellung von Zahnschmelz (22), in der Parodontoseprophylaxe (23) oder bei der Behandlung einer Periimplantitis (24).

In der Dermatologie werden ebenfalls Anwendungsmöglichkeiten für Plasma erforscht (7). Ein besonders vielversprechendes Anwendungsgebiet des Plasmas ist hierbei die Wundbehandlung (6).

Zahlreiche Studien konnten die antibakterielle und antimikrobielle Wirkung von Plasma in vivo und in vitro zeigen (25, 26). Das Atmosphärendruckplasma hatte dabei eine desinfizierende Wirkung bis hin zu kleinsten mikroskopischen Strukturen. Gesundes

Gewebe wurde durch Plasma nicht geschädigt (11). Plasma zeigte sich auch als wirksam gegenüber den in chronischen Wunden häufig vorkommenden Biofilmen (27). Neben antiseptischen Effekten des Plasmas könnten sich auch seine Einflüsse auf die Angiogenese positiv bei der Wundheilung auswirken (28). Durch die leichte Gewebeerwärmung bei TTP-Applikation kann es zu einer besseren Durchblutung des Wundbettes kommen (29).

Nicht nur in der Wundheilung, sondern auch in anderen Bereichen der Dermatologie wurden Anwendungsmöglichkeiten des TTPs untersucht. Ein Fallbericht zeigte positive Effekte auf die Haily-Haily Krankheit (30). Zudem wurde von einer Besserung beim atopischen Ekzem berichtet (8).

1.3 Zielsetzung

Ziel der Arbeit war es, neue Anwendungsmöglichkeiten von TTP in der Dermatologie zu untersuchen. Im Vordergrund stand dabei die Überprüfung der desinfizierenden Eigenschaften von TTP.

Im ersten Teil der Studie sollte ein Überblick über die Sicherheitsbewertung und die antibakteriellen Effekte der Plasmatechnologie gegeben werden. Mögliche Risikofaktoren des TTP wie Wärmeentwicklung, UV-Strahlung und Radikalfreisetzung wurden dabei bewertet. Zudem wurde ein Überblick über antibakterielle Effekte der Plasma Behandlung im Vergleich zu Octenisept® in vitro und in vivo gegeben.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde die antibakterielle Wirkung von TTP, einem konventionellen Antiseptikum Octenisept® (ODC) und der Kombination von TTP und ODC bei Patienten mit chronischen Wunden verglichen. Hierbei sollten Veränderungen der Wundflora durch TTP, ODC und der Kombination von beiden antiseptischen Behandlungen, sowie Effekte der jeweiligen Behandlungen in Abhängigkeit zur Wundexudation evaluiert werden. Zusätzlich sollten Patienten das Schmerzempfinden von TTP, ODC und der Kombination anhand der Numerischen Ratingskala (NRS) beurteilen.

Ziel des dritten Teils der Arbeit war, in einer Pilotstudie den Einfluss von TTP auf Psoriasis vulgaris zu untersuchen. Dabei sollte geklärt werden, ob die UV-Strahlung des TTPs kombiniert mit freien Radikalen Veränderungen auf Psoriasis Plaques hervorrufen kann. Neben Auswirkungen auf Rötung, Schuppung, Induration und Veränderung der Plaquegröße wurden in dieser Studie antibakterielle Effekte durch TTP auf Plaques analysiert.

2 Material und Methoden

Dieser Abschnitt fasst die in den Studien verwendete Methodik zusammen. Eine ausführliche Beschreibung der Untersuchungsmethoden erfolgt in den beigefügten Publikationen.

2.1 Plasma-Jet

In den Untersuchungen wurde der Plasma-Jet kINPen verwendet. Dieser wurde vom Leibnitz-Institut für Plasmaforschung und Technologie e.V. (INP), Greifswald entwickelt und von der Firma Neoplas GmbH in Greifswald hergestellt. Eine detaillierte Beschreibung des Plasma-Jets ist in früheren Publikationen erfolgt (27, 31, 32). Der Plasma-Jet besteht aus einem Hochspannungserzeuger und einem Handstück, ähnlich einem Kugelschreiber mit einer Plasmadüse. Im Inneren der Plasmadüse wird das Plasma gebildet. Hierzu wird zwischen zwei Elektroden eine Spannung angelegt. Durch die Hochspannungsentladung wird das hinzugegebene Prozessgas zum Plasma. Bei den vorliegenden Studien wurde als Prozessgas Argon bei einer Flussrate von 5 slm verwendet. Die Behandlungsdauer betrug pro cm² eine Minute. Die plasma-tissue interaction zone war 1,5 mm breit.

2.2 Untersuchungen bei chronischen Wunden

In die Wundstudie wurden 34 Patienten mit Ulcus cruris eingeschlossen. Die Genehmigung der Ethikkommission und die Zustimmung der Studienteilnehmer lag vor. Bei den Patienten wurden 3 Behandlungsarme angewendet: *Behandlungsarm A* (tissue tolerable plasma, TTP), *Behandlungsarm B* (Octenisept®) und *Behandlungsarm C* (Octenisept® + TTP). Octenisept® enthält die Wirkstoffe Octenidin und Phenoxyethanol und ist ein Haut- und Schleimhautantiseptikum zur Behandlung chronischer Wunden (33).

Für jeden Studienarm betrug die Behandlungsfläche 1 cm². Zur Standardisierung der Fläche wurde eine entsprechende Schablone aus Polypropylen gewählt. Zunächst wurde das Wundbett mit einer in NaCl 0,9 % getränkten Kompresse debridiert.

Anschließend erfolgte ein Abstrich. Für die Probeentnahme wurde das eSwab™-Abstrichsystem (Hain Lifescience GmbH, Norderstedt, Deutschland) verwendet.

In *Behandlungsarm A* wurde im Anschluss der Plasmastrahl horizontal und vertikal über die gesamte Plaqueoberfläche bewegt. Die Behandlungsdauer betrug 1 min/cm². In *Behandlungsarm B* wurde ein Sprühstoß von Octenisept® so auf das Wundareal aufgetragen, dass es vollständig benetzt war. Nach zweiminütiger Einwirkungszeit wurden Abstriche genommen. In *Behandlungsarm C* erfolgte zuerst die Behandlung mit TTP, im Anschluss wurde auf die vorbehandelte Stelle Octenisept® gesprüht und wiederum zwei Minuten gewartet. Um mögliche chemische Veränderungen von TTP auf das Octenisept® auszuschließen wurde immer zuerst mit TTP behandelt und dann mit Octenisept®. Nach den Behandlungen wurde ein weiterer Abstrich genommen. Die Auswertung nahm das Labor Berlin – Charité Vivantes GmbH (Berlin, Deutschland) nach 24 stündiger und 48 stündiger Inkubationszeit bei 36 °C vor. Die Bewertung erfolgte dabei semiquantitativ nach definierten Stufen (0-4). Reichliches Bakterienwachstum wurde als 4 definiert, mäßiges Wachstum als 3, geringes Wachstum als 2. Vereinzelt Wachstum wurde in der Auswertung als 1 angegeben, kein Wachstum als 0 aufgelistet.

Zudem wurde die antibakterielle Wirksamkeit der jeweiligen Studienarme in Abhängigkeit zur Wundexudation evaluiert. Hierfür wurde die Wundexudation visuell in leicht (Klasse 1), moderat (Klasse 2) und schwer (Klasse 3) eingeteilt.

Des Weiteren erfolgte zur Evaluierung der Compliance anamnestisch die Beurteilung der jeweiligen Behandlungen anhand der Numerischen Schmerzskala (NRS) von 0-10. 0 entsprach keinem Schmerz, 10 maximal vorstellbaren Schmerzen.

2.3 Untersuchungen bei Psoriasis vulgaris

Um Auswirkungen des TTP auf Psoriasis zu untersuchen wurden bei 6 Patienten zunächst 3 vergleichbare Plaques ausgewählt und 3 verschiedenen Behandlungsgruppen zugeordnet. Vor Studienbeginn wurden die Teilnehmer über die Untersuchungen aufgeklärt und eine Zustimmung der Ethikkommission eingeholt.

Bei allen Patienten wurden die 3 ausgewählten Plaques mit 5 %iger Salicylsalbe und Balneotherapie behandelt. Bei *Behandlungsarm A* wurde zusätzlich mit TTP dreimal pro Woche behandelt. *Behandlungsarm B* erhielt außer der Basistherapie keine weiteren

Behandlungen. *Behandlungsarm C* wurde täglich zusätzlich mit Dithranol und UV-Licht behandelt. Die Behandlungsdauer erstreckte sich über einen Zeitraum von 2 Wochen. Die übrigen Psoriasisplaques der Patienten wurden wie in *Behandlungsarm C* beschrieben behandelt. Vor und nach dem Beobachtungszeitraum wurde bei jedem Patienten der PASI (Psoriasis Area and Severity Index) (39) bestimmt. Veränderungen der Plaquegröße wurden ausgemessen. Modifikationen von Rötung, Schuppung und Dicke der Plaques orientierten sich an der PASI-Skalierung von 0-4.

Um Veränderungen der bakteriellen Besiedlung durch TTP bei Psoriasis Plaques zu erheben, erfolgte eine Abklatschtechnik. Dabei wurde ein Nitrozellulosefilter für 30 Sekunden auf einen leicht mit NaCl 0,9 % angefeuchteten Plaque aufgetragen. Danach wurde der Filter ebenfalls für 30 Sekunden auf eine Blutagarplatte (Columbia Agar +5 % Schafblut, bioMérieux, Nürtingen, Germany) gelegt. Nach der TTP-Behandlung wurde wie oben beschrieben ein weiterer Abklatsch genommen. Die Blutplatten wurden nach einer Inkubationszeit von 18 Stunden bei 37 °C fotografiert, gewachsene Bakterienkolonien wurden ausgezählt.

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte über die Software-Programme Microsoft Excel und SPSS 20.0. Um Unterschiede innerhalb der Gruppen festzustellen wurde der Wilcoxon-Test herangezogen. Unterschiede zwischen Gruppen wurden mittels Mann-Whitney U-Test analysiert. Als signifikant wurden Unterschiede ab einem p-Wert unter 0,05 bewertet.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Risikobewertung zur Anwendung eines Atmosphärendruckplasmas auf der menschlichen Haut

Lademann, J.; Ulrich, C.; Patzelt, A.; Richter, H.; Kluschke, F.; **Klebes, M.** et al. (2013): Risk assessment of the application of tissue-tolerable plasma on human skin. In: *Clinical Plasma Medicine* 1 (1), S. 5–10. DOI: 10.1016/j.cpme.2013.01.001.

Voraussetzung für die unbedenkliche Anwendung von TTP beim Menschen ist dessen Gewebeverträglichkeit. Hierzu werden Niedertemperaturplasmen hinsichtlich *elektrischer Sicherheit, Temperatur des Plasmas, UV-Strahlung* und *Radikalbildung* evaluiert.

Die *elektrische Sicherheit* des Plasma-Jets kINPen für den Einsatz beim Menschen wurde durch die CE-Zertifizierungskriterien bestätigt.

Die Auswirkungen der *Temperatur* bei der Anwendung des Plasma-Jets wurden an Schweineohren bei verschiedenen Bearbeitungsgeschwindigkeiten untersucht.

Wenn TTP langsam bei einer Geschwindigkeit von 2 mm/s und 4 mm/s über das Gewebe bewegt wird, zeigten sich histologisch und mittels Laser-Scan Mikroskopie minimale Strukturveränderungen der obersten 2 bis 3 Zellschichten des Stratum corneums. Wird der Plasma Stift schneller als 10 mm/s bewegt, wurden keine Veränderungen beobachtet. Bei einer Bearbeitungsgeschwindigkeit von 8 mm/s betrug die Temperatur in vivo zwischen 35 °C und 45 °C.

Bezüglich des Risikoparameters *UV-Strahlung* ergaben Untersuchungen, dass der Plasma-Jet (kINPen) mit Argon als Prozessgas eine UV-Emission im Spektralbereich von 310 nm hat. Kleinere Banden bildeten sich im Spektralbereich zwischen 330 nm und 450 nm aus. Bei 10 Studienteilnehmern wurden mittels Klebefilm-Abrissen einzelne Korneozyten-Zellschichten abgetragen. Die Wirkung des TTPs wurde vor und hinter dieser Zellschicht mit einem fasergekoppelten Spektrometer (EPP 2000 SI Scientific Instruments GmbH, Gliching, Deutschland) bestimmt. Bei einem Emissionsspektrum von 310 nm durchdringt 28 ± 7 % des TTPs eine Korneozyten-Zellschicht. Da das Stratum corneum aus ca. 20 Zellschichten besteht, wird TTP dort komplett absorbiert. Dieses Ergebnis wurde durch Messungen an einer 0,1 mm dicken Spalthaut verifiziert.

Die durch das TTP verursachte UV-Strahlung führt bei einer sachgemäßen Anwendung nicht zu einer Schädigung der Haut.

Die Auswirkungen *freier Radikale* auf die Haut wurden über Carotenoid-Konzentrationen bestimmt. Carotenoide sind Antioxidantien. Sie schützen die Haut vor freien Radikalen und lassen indirekt Rückschlüsse auf die Interaktion von freien Radikalen mit der Haut zu, da Carotenoide Markersubstanzen für das gesamte antioxidative Potential der Haut darstellen (40,41).

In vivo Messungen mit einem konfokalen Raman Mikroskop an 6 Probanden ergaben, dass es durch die TTP-Behandlung zu einem Abfall der Carotenoid Konzentrationen in den oberen Zellschichten des Stratum corneum gekommen ist. Da die oberen Zellschichten des Stratum Corneum aus abgestorbenen Korneozyten bestehen, welche keine mitotische Aktivität aufweisen, sind keine mutagenen Veränderungen zu erwarten. Bei lebenden Zellen in tieferen Hautschichten wurde kein Carotenoid Abfall verzeichnet. Freie Radikale des TTPs tangieren demnach nur die Hautoberfläche und obersten Zellschichten. Auswirkungen freier Radikale auf das Granulationsgewebe von Wunden sowie auf lebende Zellen unter einer freigelegten Epidermis sind noch nicht eindeutig geklärt.

Des Weiteren gibt die Publikation einen Überblick über antibakterielle Effekte des TTP. Ex vivo wurde an 6 Schweineohren die antiseptische Wirkung von TTP im Vergleich zu Octenisept® und einer Nichtbehandlung untersucht. Durch TTP erfolgte eine Reduktion von 94 %, bei Octenisept® wurden 99 % der Bakterien abgetötet. In vivo wurden durch TTP 74 % der Keime abgetötet, wohingegen Octenisept® zu einer vollständigen Eradikation der Keime führte (100 %).

Die geringere Wirksamkeit von TTP im Vergleich zu Octenisept® wurde darauf zurückgeführt, dass aufgrund des dünnen Plasma-Strahls die behandelte Fläche nicht homogen bearbeitet werden konnte.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die Anwendung von TTP sicher ist. Reaktionsprozesse spielen sich nur in den obersten Hautschichten ab. Weder UV-Strahlung, noch Plasmatemperatur oder die freien Radikale des TTP zeigten in den Studien Hinweise auf mögliche Gefährdungen.

Die Ergebnisse der Studie ermutigten dazu, weitere Anwendungsgebiete von Plasma in der Dermatologie so etwa bei der Behandlung von chronischen Wunden und Hauterkrankungen wie z.B. Psoriasis vulgaris zu untersuchen.

3.2 Kombinierte antibakterielle Effekte von Atmosphärendruckplasma und herkömmlichem Antiseptikum bei chronischen Wunden

Klebes, M.; Ulrich, C.; Kluschke, F.; Patzelt, A.; Vandersee, S.; Richter, H. et al. (2014): Combined antibacterial effects of tissue-tolerable plasma and a modern conventional liquid antiseptic on chronic wound treatment.

In: *J Biophotonics*. DOI: 10.1002/jbio.201400007.

In chronischen Wunden werden aufgrund von Biofilmen oder Fibrinbelegen nicht alle Bakterien durch herkömmliche Antiseptika eradiziert. Deshalb wurde die antibakterielle Wirkung von TTP, einem konventionellen Antiseptikum Octenisept® (ODC) und der Kombination von TTP und ODC untersucht.

Die bakterielle Besiedlung der Wunden in Studienarm C (ODC und TTP) war vor den Behandlungen stärker als in Studienarm A (TTP) und B (ODC). Den größten Teil der bakteriellen Besiedlung aller Wunden vor den jeweiligen Behandlungen machten *Staphylokokkus aureus* (26 %) und *Pseudomonas aeruginosa* (22 %) aus.

Die Behandlung mit TTP führte in der semiquantitativen Analyse zu einer signifikanten Verringerung von 0,98 Wertestufen, ODC-Applikation zu einer signifikanten Abnahme um 0,62 Stufen. Im Vergleich dazu ergab die kombinierte Behandlung eine signifikant höhere Wirksamkeit (Rückgang um 1,48 Stufen).

Die Anwendung von TTP führte zu einer annähernd ähnlichen Reduktion der jeweiligen Bakterienarten. Die ODC-Applikation bewirkte einen prozentual stärkeren Rückgang von Staphylokokken und Streptokokken im Vergleich zu anderen Bakterienarten. Die kombinierte Anwendung von TTP und ODC war gegenüber Staphylokokken sensitiver als bei *Pseudomonas* und führte zu einer Eradikation von Enterobakterien.

Alle Wunden in den drei Studienarmen zeigten im Schnitt eine geringe Exudation. Wunden mit starker Exudation waren vermehrt besiedelt. Wunden mit geringer und moderater Exudation wurden am häufigsten mit Staphylokokken besiedelt. Wunden mit starker Exudation wurden am häufigsten von Streptokokken besiedelt, gefolgt von *Pseudomonas*. TTP führte zu einer insignifikant höheren Reduktionsrate in leicht und stark exudierenden Wunden. Dagegen erreichte ODC eine höhere Reduktionsrate bei Wunden mit moderater Exudation. Die kombinierte Anwendung von TTP und ODC

brachte vor allem bei geringer und moderater Wundexudation gegenüber den jeweils einzelnen Anwendungen höhere Reduktionsraten.

TTP, ODC und die Kombination wurde von allen Studienteilnehmern gut toleriert. TTP war für die Patienten besser verträglich (Numerische Schmerzskala 0,72) als ODC (Numerische Schmerzskala 1,62). Die Kombination von beiden Behandlungen war für die Patienten etwas unangenehmer (Numerische Schmerzskala 1,88).

Die ermittelte antibakterielle Wirkung des TTPs fügt sich in eine Reihe von in vitro und in vivo Untersuchungen ein. Ursächlich hierfür ist die Kombination aus reaktiven Spezies, UV- und elektromagnetischer Strahlung. Das Zusammenspiel der verschiedenen Wirkkomponenten unterbindet offensichtlich die Ausbildung von Resistenzen. Die Ergebnisse der Studie beziehen sich jedoch ausschließlich auf die direkte antibakterielle Wirkung bei der Wundbehandlung. Bislang noch nicht veröffentlichte Untersuchungen des Center of Experimental & Applied Cutaneous Physiology an der Charité (Berlin, Deutschland) haben ergeben, dass die desinfizierende Wirkung des TTP im Vergleich zu flüssigen Antiseptika länger anhaltend ist. Zwei Stunden nach der Behandlung mit TTP und flüssigem Desinfektionsmittel wurden auf der mit TTP behandelten Haut weniger Keime detektiert als auf der mit flüssigem Desinfektionsmittel behandelten Stelle. Keime können trotz flüssiger Desinfektion in den Haarfollikeln überleben und von dort zu einer schnelleren Rekolonisation führen. TTP hingegen wirkt auch in den Haarfollikel antiseptisch.

Antibakterielle Effekte und Shifts der bakteriellen Kolonisation sollten daher über einen längeren Zeitraum weiter beobachtet werden. Dabei empfiehlt es sich auch, diese Effekte sowohl durch TTP alleine, als auch durch eine kombinierte Anwendung von TTP und ODC auf multiresistente Keime (MRSA) zu untersuchen.

In der vorliegenden Studie wurden die Untersuchungen standardisiert an je 1 cm² Wundoberfläche durchgeführt. Für einen Praxiseinsatz mit einer größeren Wundfläche ist der eingesetzte Plasmastahl kINPen von 1 mm Breite zu dünn für eine effiziente Therapie. Voraussetzung hierfür wäre die Entwicklung eines Plasma-Jet mit einem breiteren Plasmastrahl.

Bei weiteren Studien wäre auch zu überlegen, ob anstelle einer semiquantitativen Einteilung eine vertiefende quantitative bakterielle Untersuchung durchgeführt werden könnte.

Neben der Behandlung chronischer Wunden könnte Plasma aufgrund seiner antibakteriellen Wirkung auch bei einer Reihe bakteriell getriggelter dermatologischer Erkrankungen z.B. Follikulitiden oder Impetigo contagiosa hilfreich sein. Es bietet sich an, diesbezüglich entsprechende Untersuchungen durchzuführen. TTP zeigte nicht nur Effekte gegenüber Bakterien, sondern auch gegenüber Viren und Pilzen (7). Bislang sind hier nur in vitro Beobachtungen publiziert. So könnten in weiteren Studien positive Effekte in der Behandlung von Mykosen, z.B. der Tinea pedis untersucht werden.

3.3 Effekte von Atmosphärendruckplasma auf Psoriasis vulgaris im Vergleich zur herkömmlicher Behandlung

Klebes, M.; Lademann, J.; Philipp, S.; Ulrich, C.; Patzelt, A.; Ulmer, M. et al. (2013): Effects of tissue-tolerable plasma on psoriasis vulgaris treatment compared to conventional local treatment: A pilot study.

In: *Clinical Plasma Medicine*. DOI: 10.1016/j.cpme.2013.11.002.

Nach positiven Auswirkungen von TTP auf chronische Wunden und Hinweisen über ebenfalls positive Fallberichte bei chronischen Hauterkrankungen (30) wurden mögliche Effekte freier Radikale und der UV-Strahlung des TTPs auch auf Psoriasisplaques untersucht.

Abgesehen von den Plaques, die den Behandlungsarmen A und B zugeordnet wurden, wurden alle übrigen Plaques der Patienten wie in Behandlungsarm C therapiert.

Nach zweiwöchiger Behandlung kam es bei den Studienteilnehmern insgesamt zu einer Besserung des Hautbefundes mit einem Rückgang des PASI.

Bei den untersuchten Plaques war der Rückgang der Fläche in Behandlungsarm C geringfügig größer als in A und B. Allerdings war der Rückgang der Plaquegröße in keinem Behandlungsarm signifikant. Rötung und Verdickung der Plaques waren durch Behandlung A und C leicht rückläufig. Die Schuppung konnte nur in Behandlungsarm C signifikant reduziert werden. TTP zeigte in der Pilotstudie gegenüber der Standardtherapie keinen signifikanten Vorteil.

Zusätzlich wurde auch aufgrund der bekannten antibakteriellen Wirkung des Plasmas vor und nach der TTP-Behandlung Abstriche genommen. Eine deutliche Reduktion der Bakterien durch das Plasma wurde jeweils beobachtet.

Physikalische Stimuli können Einfluss auf Psoriasis vulgaris haben. So kann beispielsweise durch alleiniges Kratzen bei den Patienten (Köbner Phänomen) die Bildung von Plaques ausgelöst werden. UV-Licht hingegen führt zu einer Verbesserung des Krankheitsbildes.

Rötung und Verdickung konnten signifikant in Behandlungsarm A und C reduziert werden. Rötung ist ein Zeichen einer Entzündung, welches hauptsächlich durch ein vaskuläres Remodeling und Angiogenese verursacht wird. TTP könnte leichte antiinflammatorische Effekte durch die UV-Strahlung haben und über die Hemmung der Angiogenese innerhalb der Plaques zu einem Rückgang der Rötung geführt haben. Generell war es schwierig, Veränderungen der Rötung, Verdickung und Schuppung anhand einer semiquantitativen Einteilung zu bestimmen. Sensitivere Messmethoden wären in weiterführenden Studien von Vorteil, um Effekte von TTP und anderen neuen Therapieverfahren zu detektieren. Ein längeres Zeitintervall als 2 Wochen hätte möglicherweise einen eindeutigeren Einfluss auf das Ergebnis gehabt. Allerdings wäre es schwierig gewesen ein Patientenkollektiv zu finden, welches nach Abschluss der zweiwöchigen tagesstationären Behandlung an die Charité – Universitätsmedizin Berlin (Berlin, Deutschland) gekommen wäre.

Die gewählte Vorgehensweise stellte somit einen Kompromiss zwischen den durch die Ethikkommission festgelegten Patientenerfordernissen und einer rein wissenschaftlichen Vorgehensweise dar. Nach Vorgaben der Ethikkommission sollten alle Psoriasisplaques therapiert werden. Daher erhielt auch die Kontrollgruppe (Behandlungsarm B) eine Basistherapie. Da in Behandlungsarm A zusätzlich mit TTP und Behandlungsarm C zusätzlich Dithranol und UV-Licht eingesetzt wurde, lassen sich indirekt Rückschlüsse auf einen Behandlungserfolg ziehen.

Bei der Untersuchung der antibakteriellen Wirksamkeit wurden große Streuungen der Bakterienkolonien beobachtet. Es könnte sein, dass der dünne Plasmastrahl nicht alle Areale auf den Plaques erfasst. Bei künftigen Studien wäre deshalb zu prüfen, ob nicht ein breiterer Plasmastrahl zur Anwendung kommen kann.

Die antibakterielle Wirkung des TTP wird u.a. durch freie Radikale beeinflusst. Freie Radikale scheinen auch bei Entzündungsprozessen der Psoriasis eine Rolle zu spielen (34, 35). Es kommt bei Erkrankten zu einem Anstieg der reaktiven Spezies, bei einem

Abfall der Antioxidantien. Lima et al. konnten zeigen, dass Patienten mit Psoriasis geringere Konzentrationen an Karotenoiden aufweisen (36).

TTP hat vor allem Auswirkungen auf die oberen Zellschichten. Psoriasis ist jedoch eine systemische Erkrankung, bei der immunologische Mechanismen, gekoppelt an eine Proliferationsstörung der Keratinozyten, eine entscheidende Rolle spielen.

Zusammenfassend konnten in der Pilotstudie minimal positive Effekte durch die TTP-Therapie festgestellt werden. Im Vergleich zu der herkömmlichen Therapie ist TTP jedoch deutlich unterlegen. Da nach TTP-Behandlung Wirkstoffe besser durch die Haut penetrieren können (37), sollten weitere Studien erfolgen, bei denen TTP ergänzend zu herkömmlichen topischen Therapien appliziert wird. Größere und länger dauernde klinische Studien sind notwendig, um den Einfluss von TTP auf Psoriasis und andere Hauterkrankungen zu untersuchen.

4 Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
CE	Communautés Européennes
cm ²	Quadratcentimeter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
mm	Millimeter
MRSA	Methicillin resistenter staphylococcus aureus
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
NRS	Numerische Rating-Skala
ODC	Octenisept®
PASI	Psoriasis Area and Severity Index
s	Sekunde
Slm	Standard-Liter pro Minute
TTP	Tissue tolerable Plasma
UV	Ultra-Violett
z.B.	zum Beispiel
%	Prozent

5 Literaturverzeichnis

1. Körber A, Klode J, Al-Benna S, Wax C, Schadendorf D, Steinstraesser L et al. Etiology of chronic leg ulcers in 31,619 patients in Germany analyzed by an expert survey. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 2011; 9(2):116–21.
2. Rüttermann M, Maier-Hasselmann A, Nink-Grebe B, Burckhardt M. Local treatment of chronic wounds: in patients with peripheral vascular disease, chronic venous insufficiency, and diabetes. *Dtsch Arztebl Int* 2013; 110(3):25–31.
3. Gillitzer R. Modernes Wundmanagement. *Der Hautarzt* 2002; 53(2):130–47.
4. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin. Microbiol. Rev.* 2001; 14(2):244–69.
5. Lademann J, Richter H, Schanzer S, Patzelt A, Thiede G, Kramer A et al. Comparison of the antiseptic efficacy of tissue-tolerable plasma and an octenidine hydrochloride-based wound antiseptic on human skin. *Skin Pharmacol Physiol* 2012; 25(2):100–6.
6. Isbary G, Morfill G, Schmidt HU, Georgi M, Ramrath K, Heinlin J et al. A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients. *Br. J. Dermatol.* 2010; 163(1):78–82.
7. Heinlin J, Isbary G, Stolz W, Morfill G, Landthaler M, Shimizu T et al. Plasma applications in medicine with a special focus on dermatology. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011; 25(1):1–11.
8. Emmert S, Brehmer F, Hänßle H, Helmke A, Mertens N, Ahmed R et al. Atmospheric pressure plasma in dermatology: Ulcus treatment and much more. *Clinical Plasma Medicine* 2013; 1(1):24–9.
9. Moisan M, Barbeau J, Moreau S, Pelletier J, Tabrizian M, Yahia L. Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms. *International Journal of Pharmaceutics* 2001; 226(1-2):1–21.

10. Fridman AA, Kennedy LA. Plasma physics and engineering. New York: Taylor & Francis; 2004.
11. Lademann J, Richter H, Alborova A, Humme D, Patzelt A, Kramer A et al. Risk assessment of the application of a plasma jet in dermatology. *J Biomed Opt* 2009; 14(5):54025.
12. Laroussi M, Fridman A, Fridman G, Friedman G, Gutsol A, Shekhter AB et al. Applied Plasma Medicine. *Plasma Process. Polym.* 2008; 5(6):503–33.
13. Weltmann K, Brandenburg R, Woedtke T von, Ehlbeck J, Foest R, Stieber M et al. Antimicrobial treatment of heat sensitive products by miniaturized atmospheric pressure plasma jets (APPJs). *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2008; 41(19):194008.
14. Tiede R, Hirschberg J, Daeschlein G, Woedtke T von, Vioel W, Emmert S. Plasma Applications: A Dermatological View. *Contrib. Plasma Phys.* 2014; 54(2):118–30.
15. Valacchi G, Fortino V, Bocci V. The dual action of ozone on the skin. *Br. J. Dermatol.* 2005; 153(6):1096–100.
16. Kramer A. Chancen und Perspektiven der Plasmamedizin durch Anwendung von gewebekompatiblen Atmosphärendruckplasmen (Tissue Tolerable Plasmas, TTP) Chances and perspectives of the plasma medicine by use of Tissue Tolerable Plasma (TTP). *GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär*; 4:Doc10.
17. Laroussi M, Fridman A, Woedtke T von, Kramer A, Weltmann K. Plasma Sterilization: What are the Conditions to Meet this Claim? *Plasma Process. Polym.* 2008; 5(6):534–9.
18. Manner H, May A, Rabenstein T, Pech O, Nachbar L, Enderle MD et al. Prospective evaluation of a new high-power argon plasma coagulation system (hp-APC) in therapeutic gastrointestinal endoscopy. *Scand. J. Gastroenterol.* 2007; 42(3):397–405.
19. Partecke L, Evert K, Haugk J, Doering F, Normann L, Diedrich S et al. Tissue Tolerable Plasma (TTP) induces apoptosis in pancreatic cancer cells in vitro and in vivo. *BMC Cancer* 2012; 12(1):473.
20. Sensenig R, Kalghatgi S, Cerchar E, Fridman G, Shereshevsky A, Torabi B et al. Retraction Note to: Non-thermal Plasma Induces Apoptosis in Melanoma Cells via Production of Intracellular Reactive Oxygen Species // Retraction note to: Non-thermal

plasma induces apoptosis in melanoma cells via production of intracellular reactive oxygen species. *Ann Biomed Eng* 2013; 41(3):656.

21. Lee HJ, Shon CH, Kim YS, Kim S, Kim GC, Kong MG. Degradation of adhesion molecules of G361 melanoma cells by a non-thermal atmospheric pressure microplasma. *New J. Phys.* 2009; 11(11):115026.

22. Kong MG, Kroesen G, Morfill G, Nosenko T, Shimizu T, van Dijk J et al. Plasma medicine: an introductory review. *New J. Phys.* 2009; 11(11):115012.

23. Lee HW, Kim GJ, Kim JM, Park JK, Lee JK, Kim GC. Tooth bleaching with nonthermal atmospheric pressure plasma. *J Endod* 2009; 35(4):587–91.

24. Koban I, Jablonowski L, Kramer A, Weltmann K, Kocher T. Medical Plasma in Dentistry: A Future Therapy for Peri-implantitis:191–200.

25. Ermolaeva SA, Varfolomeev AF, Chernukha MY, Yurov DS, Vasiliev MM, Kaminskaya AA et al. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds. *J. Med. Microbiol.* 2011; 60(Pt 1):75–83.

26. Isbary G, Heinlin J, Shimizu T, Zimmermann JL, Morfill G, Schmidt H et al. Successful and safe use of 2 min cold atmospheric argon plasma in chronic wounds: results of a randomized controlled trial. *Br. J. Dermatol.* 2012; 167(2):404–10.

27. Hübner N, Matthes R, Koban I, Rändler C, Müller G, Bender C et al. Efficacy of chlorhexidine, polihexanide and tissue-tolerable plasma against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms grown on polystyrene and silicone materials. *Skin Pharmacol Physiol* 2010; 23 Suppl:28–34.

28. Arjunan KP, Friedman G, Fridman A, Clyne AM. Non-thermal dielectric barrier discharge plasma induces angiogenesis through reactive oxygen species. *J R Soc Interface* 2012; 9(66):147–57.

29. Hammann A, Huebner N, Bender C, Ekkernkamp A, Hartmann B, Hinz P et al. Antiseptic efficacy and tolerance of tissue-tolerable plasma compared with two wound antiseptics on artificially bacterially contaminated eyes from commercially slaughtered pigs. *Skin Pharmacol Physiol* 2010; 23(6):328–32.

30. Isbary G, Morfill G, Zimmermann J, Shimizu T, Stolz W. Cold atmospheric plasma: a successful treatment of lesions in Hailey-Hailey disease. *Arch Dermatol* 2011; 147(4):388–90.
31. Weltmann K, Brandenburg R, Woedtke T von, Ehlbeck J, Foest R, Stieber M et al. Antimicrobial treatment of heat sensitive products by miniaturized atmospheric pressure plasma jets (APPJs). *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2008; 41(19):194008.
32. Metelmann H, Woedtke T von, Bussiahn R, Weltmann K, Rieck M, Khalili R et al. Experimental Recovery of CO₂-Laser Skin Lesions by Plasma Stimulation. *American Journal of Cosmetic Surgery* 2012; 29(1):52–6.
33. Hübner N, Siebert J, Kramer A. Octenidine Dihydrochloride, a Modern Antiseptic for Skin, Mucous Membranes and Wounds. *Skin Pharmacol Physiol* 2010; 23(5):244–58.
34. Baz K, Cimen, M Y Burak, Kokturk A, Yazici AC, Eskandari G, Ikizoglu G et al. Oxidant / antioxidant status in patients with psoriasis. *Yonsei Med. J.* 2003; 44(6):987–90.
35. Trouba KJ, Hamadeh HK, Amin RP, Germolec DR. Oxidative stress and its role in skin disease. *Antioxid. Redox Signal.* 2002; 4(4):665–73.
36. Lima XT, Kimball AB. Skin carotenoid levels in adult patients with psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011; 25(8):945–9.
37. Lademann O, Richter H, Meinke MC, Patzelt A, Kramer A, Hinz P et al. Drug delivery through the skin barrier enhanced by treatment with tissue-tolerable plasma. *Experimental Dermatology* 2011; 20(6):488–90.
38. Sen CK, Roy S. Redox signals in wound healing. *Biochim. Biophys. Acta* 2008; 1780(11):1348–61.
39. Mattei PL, Corey KC, Kimball AB. Psoriasis Area Severity Index (PASI) and the Dermatology Life Quality Index (DLQI): the correlation between disease severity and psychological burden in patients treated with biological therapies. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014; 28(3):333–7.
40. Meinke MC, Friedrich A, Tscherch K, Haag SF, Darvin ME, Vollert H et al. Influence of dietary carotenoids on radical scavenging capacity of the skin and skin lipids. *Eur J Pharm Biopharm* 2013; 84(2):365–73.

41. Haag SF, Taskoparan B, Darvin ME, Groth N, Lademann J, Sterry W et al. Determination of the antioxidative capacity of the skin in vivo using resonance Raman and electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Exp. Dermatol.* 2011; 20(6):483–7.

Eidesstattliche Versicherung

Ich, Martin C. Klebes, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Dermatologische Anwendung eines körperwarmen elektrischen Plasmas selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Martin C. Klebes hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1

Lademann, J.; Ulrich, C.; Patzelt, A.; Richter, H.; Kluschke, F.; **Klebes, M.** et al. (2013): Risk assessment of the application of tissue-tolerable plasma on human skin. In: *Clinical Plasma Medicine* 1 (1), S. 5–10. DOI: 10.1016/j.cpme.2013.01.001.

Anteil: 15%

Beitrag im Einzelnen: Vorbereitung und Durchführung von Untersuchungen zum Einfluss von Temperatur und Plasmaparameter auf das Modellgewebe Schweineohr

Publikation 2

Klebes, M.; Ulrich, C.; Kluschke, F.; Patzelt, A.; Vandersee, S.; Richter, H. et al. (2014): Combined antibacterial effects of tissue-tolerable plasma and a modern conventional liquid antiseptic on chronic wound treatment. In: *J Biophotonics*. DOI: 10.1002/jbio.201400007.

Anteil: 65%

Beitrag im Einzelnen: Vorbereitung und Durchführung der Forschungsarbeit

Impact factor: 3,10

Publikation 3

Klebes, M.; Lademann, J.; Philipp, S.; Ulrich, C.; Patzelt, A.; Ulmer, M. et al. (2013): Effects of tissue-tolerable plasma on psoriasis vulgaris treatment compared to conventional local treatment: A pilot study. In: *Clinical Plasma Medicine*. DOI: 10.1016/j.cpme.2013.11.002.

Anteil: 65%

Beitrag im Einzelnen: Vorbereitung und Durchführung der Forschungsarbeit

Unterschrift, Datum und Stempel

des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden

Druckexemplare der Publikationen

Publikation 1

Lademann, J.; Ulrich, C.; Patzelt, A.; Richter, H.; Kluschke, F.; **Klebes, M.** et al. (2013):
Risk assessment of the application of tissue-tolerable plasma on human skin.

In: Clinical Plasma Medicine 1 (1), S. 5–10.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cpme.2013.01.001>

Publikation 2

Klebes, M.; Ulrich, C.; Kluschke, F.; Patzelt, A.; Vandersee, S.; Richter, H. et al. (2014):
Combined antibacterial effects of tissue-tolerable plasma and a modern conventional
liquid antiseptic on chronic wound treatment.

In: J Biophotonics. <http://dx.doi.org/10.1002/jbio.201400007>

Publikation 3

Klebes, M.; Lademann, J.; Philipp, S.; Ulrich, C.; Patzelt, A.; Ulmer, M. et al. (2013):
Effects of tissue-tolerable plasma on psoriasis vulgaris treatment compared to
conventional local treatment: A pilot study.
In: *Clinical Plasma Medicine*.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cpme.2013.11.002>

Tabellarischer Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Komplette Publikationsliste

Originalarbeiten:

Klebes, M.: Wirksamkeit und Nebenwirkungsprofil der Dapsontherapie bei PatientInnen mit kutanem Lupus Erythematodes. 2014 [Diplomarbeit/Master Thesis], Graz Medical University. (im Gutachterverfahren)

Klebes, M.; Ulrich, C; Kluschke, F; Patzelt, A; Vandersee, S; Richter, Heike et al.: Combined antibacterial effects of tissue-tolerable plasma and a modern conventional liquid antiseptic on chronic wound treatment. 2014; In: *J. Biophoton.*, S. n/a. DOI: 10.1002/jbio.201400007.

Klebes, M.; Lademann, J.; Philipp, S.; Ulrich, C.; Patzelt, A.; Ulmer, M. et al.: Effects of tissue-tolerable plasma on psoriasis vulgaris treatment compared to conventional local treatment: A pilot study. 2013; In: *Clinical Plasma Medicine*. DOI: 10.1016/j.cpme.2013.11.002.

Lademann, J.; Ulrich, C.; Patzelt, A.; Richter, H.; Kluschke, F.; **Klebes, M.** et al.: Risk assessment of the application of tissue-tolerable plasma on human skin. 2013; In: *Clinical Plasma Medicine* 1 (1), S. 5–10. DOI: 10.1016/j.cpme.2013.01.001.

Abstracts:

Aberer, E; **Klebes, M;** Wutte, N.: Dapsone and retinoids. In: *J INVEST DERMATOL*. 2014; 134(5): 1486-1486.

Herbert, VG; Günther, M; **Klebes, M.:** Professor YouDermatoscope? – Eine Evaluierung des Lehrmaterials über die Anwendung der ABCDE-Regel auf YouTube. Jahrestagung der Gesellschaft für Medizinische Ausbildung (GMA). Graz, 26.-

28.09.2013. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2013.
DocP05_02

Herbert, VG; Weger, C; **Klebes, M**; Schlumm, P; Frings, A.: Beschwerdemanagement im Medizinstudium? Jahrestagung der Gesellschaft für Medizinische Ausbildung (GMA). Graz, 26.-28.09.2013. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2013. DocP09_02

Poster:

Klebes, M; Wutte, N; Aberer E.: Dapsone - a second line alternative in chloroquine-resistant LE. ICCLE; MAY 6-9; Edinburgh. 2013.

Herbert, VG; Günther, M; **Klebes, M.**: Professor YouTube? - A content Analysis and Quality Assessment of Training Material on Dermatoscopy available on YouTube. P-219. 8th World Congress of Melanoma. 17.-20. Juli 2013, Hamburg, Deutschland

Herbert, VG; Weger, C; **Klebes, M**; Schlumm, P; Frings, A. Beschwerdemanagement im Medizinstudium? In: Jahrestagung der Gesellschaft für Medizinische Ausbildung (GMA). Graz, 26.-28.09.2013.

Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei den Menschen bedanken, die mich während meiner Promotion betreut, unterstützt und gefördert haben.

Ein großer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr.-Ing. Jürgen Lademann für die ausgezeichnete Betreuung. Er hat mir die Erstellung dieser Arbeit ermöglicht und mich mit wertvollen Hinweisen immer wieder motiviert.

Ferner danke ich Herrn Priv. Doz. Dr. Bernhard Lange-Asschenfeldt, der mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand und den Fortgang meiner Publikationen durch kritische Anregungen und fachliche Unterstützung begleitet hat.

Ebenfalls möchte ich mich herzlich bei der Arbeitsgruppe Hautphysiologie an der Charité bedanken.

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie. Allen voran möchte ich meinem Vater Herrn Dr. Josef Klebes für die vielen hilfreichen Diskussionen danken.